ผลของพารามิเตอร์ดินต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า

EFFECT OF SOIL PARAMETER ON CRUDE EXTRACT FROM CUMIN

กิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว
ทิพย์นารี ต่วนซะเอม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

ผลของพารามิเตอร์ดินต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า

EFFECT OF SOIL PARAMETER ON CRUDE EXTRACT FROM CUMIN

กิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว
ทิพย์นารี ต่วนชะเอม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

EFFECT OF SOIL PARAMETER ON CRUDE EXTRACT FROM CUMIN

KITIMAPORN KANBUAKAEW
THIPNAREE TUANCHA-EM

A SPECAIL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของพารามิเตอร์ดินต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า
Effect of soil parameters on crude extract from cumin

ชื่อนักศึกษา นางสาวกิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว รหัสนักศึกษา 57050671
นางสาวทิพย์นารี ต่วนชะเอม รหัสนักศึกษา 57050690

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงค์วัฒนา กรรมการ	
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของพารามิเตอร์ดินต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว รหัสนักศึกษา 57050671
	นางสาวทิพย์นารี ต่วนชะเอม รหัสนักศึกษา 57050690
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ

บทคัดย่อ

ยี่หร่าจัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางการแพทย์ที่สำคัญชนิดหนึ่ง แต่สารออกฤทธิ์จากพืชส่วนมากจะมีปัญหาในด้านปริมาณของสารที่ไม่แน่นอน เนื่องจากปัจจัยหลายประการจากการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ คือ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใช้ปุ๋ยที่แตกต่างกัน ต้นยี่หร่าถูกนำไปปลูกในดินที่มีการให้ปุ๋ยแตกต่างกัน คือ ดินปกติ ดินที่ผสมปุ๋ยคอก ดินที่ผสมปุ๋ยหมัก จากนั้นนำต้นยี่หร่าที่ผ่านการสกัดหยาบ มาทำการวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมี จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ หาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และการต้านแบคทีเรีย ดินที่ใช้ปลูกนำมาหาปริมาณอินทรีย์วัตถุ และคุณสมบัติทางกายภาพ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่ามีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่สาร Phenol (9.345 %) , Caryophyllene oxide (1.853 %) , Hexadecanoic acid (4.395 %) , Phytol (12.069 %), Ethyl Linoleolate (10.934 %) , 9-Octadecenamide (38.373 %) และ Octadecenamide (11.515 %) ซึ่งปริมาณสารที่พบสูงที่สุด คือ สาร 9-Octadecenamide ถูกพบในสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินปกติ ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอกมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด และสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมักมีปริมาณฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์มากที่สุด ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ยมีฤทธิในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 มากที่สุด และสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอกมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 มากที่สุด จากการทดสอบค่าความความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าทุกกลุ่มการทดลองมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุด >100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดินปลูกปกติ ดินผสมปุ๋ยคอก และดินผสมปุ๋ยหมัก มีอินทรียวัตถุร้อยละ 0.25, 61.97 และ 12.53 มีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 0.10, 4.67 และ0.78 เดซิ

ซีเมนต์/เมตร (ds/m) มีค่า pH เท่ากับ 6.8, 8.40, และ 6.84 ตามลำดับ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการปลูกยี่หร่าด้วยดินที่ผสมปุ๋ยคอกจะทำให้ได้สารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียมากกว่าการปลูกด้วยดินปกติและดินที่ผสมปุ๋ยหมัก

คำสำคัญ : ยี่หร่า อินทรีย์วัตถุ การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อแบคทีเรีย

Title	Effect of soil parameters on crude extract from cumin
Student	Miss Kitimaporn kanbuakaew Student ID 57050671
	Miss Thipnaree Tuancha-em Student ID 57050690
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic year	2017
Advisor	Asst.Prof.Dr.Worakrit Worananthakij

Abstact

Cumin is importantly one of medical herb but the quantitative of active ingredient may different by several factors of plant growth. Then, the aims of this study to analyze the cumin crude extract, which plants in different plant materials. Cumin was planted in different plant material such as normal soil, soil with manure and soil with compost. The crude extract of cumin different plant material was analyzed the chemical composition, antioxidant activity, phenolic, flavonoid compound and antibacterial activity, while the plant materials were analyzed in percent of organic compound and the physical properties. The results showed, the chemical composition of the crude cumin included Phenol (9.345%), Caryophyllene oxide (1.853%), Hexadecanoic acid (4.395%), Phytol (12.069%), Ethyl Linoleolate (10.934%), 9-Octadecenamide (38.373%) and Octadecenamide (11.515%). The maximum level of compound was 9-Octadecenamide, found in the crude extract cumin planted in normal soil. Crude extract planted in soil with manure the maximum level, while the highest of total phenolic and flavonoid compound was found from the cumin extract planted in soil with compost. The antimicrobial activity test represented the highest level of inhibitory effect of *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) from the cumin crude extract from normal soil whereas the highest level of inhibitory effect of *Staphylococcus aureus* (TISTR 118) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) occurred from the cumin crude extract in soil with manure. The minimal inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration test from all treatment were more than 100 mg/ml. Percent of organic compound and the physical

properties from three plant materials displayed 0.25%, 61.97% and 12.53% respectively. The electrical conductivity was 0.10, 4.67 and 0.78 db / m. The pH was 6.8, 8.40 and 6.84 respectively. Based on this study demonstrated the cumin planted with soil with manure bring about the antioxidant activity and antibacterial activity more than normal soil and soil with compost.

Keywords: cumin, physical property, antioxidant, antimicrobial

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้คำแนะนำ ความรู้ และช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษ ด้วยความเอาใจใส่ตลอดมา

ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย กิตติวงค์วัฒนา กรรมการสอบโครงการพิเศษที่ให้คำแนะนำ ตรวจสอบ รวมถึงชี้แนะให้โครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชา ความรู้ และประสบการณ์ ให้กับผู้จัดทำโครงงานพิเศษตลอดหลักสูตรการศึกษา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอม เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ ช่วยเหลือ ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณด้านสถานที่ในการเพาะปลูกยี่หร่า อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเพาะปลูก

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ครอบครัวก้านบัวแก้ว ครอบครัวต่วนชะเอม เพื่อนๆทุกคน ที่เป็นกำลังใจและช่วยเหลือมาโดยตลอด คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจหรือผู้ที่ต้องการศึกษาค้นคว้าด้านนี้ไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใดในเนื้อหาทางคณะผู้จัดทำขออภัยอย่างสูงมา ณ ที่นี้

กิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว
ทิพย์นารี ต่วนชะเอม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญรูป ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ต้นยี่หร่า 3
2.1.1 วงจรการเจริญเติบโตของพืช 4
2.1.2 การเตรียมตัวอย่างพืช 4
2.2 แร่ธาตุอาหาร 4
2.2.1 ไนโตรเจน 5
2.2.2 ฟอสฟอรัส 5
2.2.3 โพแตสเซียม 5
2.3 ปุ๋ย 5
2.3.1 ปุ๋ยอินทรีย์ 6
2.3.1.1 สมบัติทางเคมีของปุ๋ยอินทรีย์ 6
2.3.1.2 สมบัติทางกายภาพปุ๋ยอินทรีย์ 6
2.3.1.3 สมบัติทางชีวภาพปุ๋ยอินทรีย์ 6
2.3.2 ประเภทของปุ๋ยอินทรีย์ 6
2.3.2.1 ปุ๋ยคอก 7
2.3.2.2 ปุ๋ยพืชสด 7

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.3.2.3 ปุ๋ยหมัก 7
2.4 อนุมูลอิสระ (Antioxidant) 7
2.5 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ 8
2.5.1 ปัจจัยภายในร่างกาย 8
2.5.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย 8
2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ 9
2.6.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ 9
2.6.2 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ 10
2.7 การสกัด 10
2.7.1 หลักการสกัดสารด้วยตัวทำละลาย 10
2.7.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย 10
2.7.3 การสกัดด้วยเอทานอล 11
2.8 สารพฤกษเคมีในพืช 12
2.8.1 แอลคาลอยด์ 12
2.8.2 ฟลาโวนอยด์ 13
2.8.3 เทอร์ปีนอยด์ 13
2.8.4 สารกลุ่มไกลโคไซด์ 14
2.8.5 แทนนิน 15
2.9 แบคทีเรียก่อโรคทั่วไป 16
2.9.1 *Staphylococcus* aureus 16
2.9.2 *Bacillus cereus* 16
2.9.3 *Escherichia coli* 17
2.9.4 *Pseudomonas aeruginosa* 18
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 22

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.1 พืชที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย 22
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ 22
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ 22
3.4 อุปกรณ์ 22
3.4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ 22
3.4.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 23
3.4.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ 23
3.5 วิธีการทดลอง 24
3.5.1 การสกัดสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล 24
3.5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ 24
3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ 24
3.5.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 24
3.5.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมด 25
3.5.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 25
3.5.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion 25
3.5.4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ 25
3.5.4.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ 25
3.5.4.3 การทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ 26
3.5.5 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ 26
3.5.6 การหาความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 26
3.5.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 26
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 27
4.1 ผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบพารามิเตอร์ดินและปุ๋ยแต่ละชนิด 27
4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย GC-MS 27
4.3 ปริมาณผลได้ของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า 32
4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH 33
4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด 34

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.6 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 35

4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion 36

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยละข้อเสนอแนะ 48

5.1 สรุปผลการวิจัย 48

5.2 ข้อเสนอแนะ 49

เอกสารอ้างอิง 50

ภาคผนวก 56

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ 57

ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดสอบ 58

ภาคผนวก ค ภาพสถานที่เก็บตัวอย่างพืช 60

ภาคผนวก ง ข้อมูลผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากยี่หร่า 61

ภาคผนวก จ การคำนวณและตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ 65

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยคอก 7

4.1 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง 29

4.2 ผลของการสกัดสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง 33

4.3 ค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า
ที่ปลูกโดยยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง 33

4.4 ค่ายับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 50% (IC_{50}) 34

4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองปริมาณ 35

4.6 สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง 36

4.7 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง 37

4.8 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่ม (MIC) และความเข้มข้น
ที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) 47

ง.1 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองไม่ใส่ปุ๋ย 62

ง.2 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองใส่ปุ๋ยคอก 62

ง.3 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองใส่ปุ๋ยหมัก 62

ง.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า
ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 63

ง.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ 63

ง.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดยี่หร่าที่
ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 65

จ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 66

จ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 67

จ.3 การจัดกลุ่มของข้อมูลร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบในแต่ละความเข้มข้น
โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 67

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

จ.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 68

จ.5 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณสารปะกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 69

จ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 69

จ.7 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 69

จ.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ATCC 6633 โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 70

จ.9 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 71

จ.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 72

จ.11 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 73

จ.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* TISTR 118 โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 74

จ.13 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสาร สกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 75

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ต้นยี่หร่า	3
2.2	เครื่องสกัดน้ำมันหอมระเหย	11
2.3	เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ	12
2.4	แสดงกลุ่มตัวอย่างของสารแอลคาลอยด์	12
2.5	แสดงตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์	13
2.6	แสดงตัวอย่างสารกลุ่มเทอร์ปินอยด์	14
2.7	แสดงกลุ่มตัวอย่างของกลุ่มไกลโคไซด์	15
2.8	แสดงตัวอย่างของสารกลุ่มแทนนิน	15
2.9	ภาพแสดงลักษณะเชื้อ *Staphylococcus aureus*	16
2.10	ภาพแสดงลักษณะเชื้อ *Bacillus cereus*	17
2.11	ภาพแสดงลักณะเชื้อ *Escherichia coli*	17
2.12	ภาพแสดงลักษณะเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*	18
4.1	โครมาโตรแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองไม่ใส่ปุ๋ย	31
4.2	โครมาโตรแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองใส่ปุ๋ยคอก	31
4.3	โครมาโตรแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองใส่ปุ๋ยหมัก	32
4.4	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	39
4.5	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยปุ๋ยคอก	39
4.6	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยปุ๋ยหมัก	40
4.7	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	41
4.8	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	41
4.9	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	42

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.10 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseumonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย 43

4.11 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseumonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก 43

4.12 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseumonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก 44

4.13 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย 45

4.14 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ Staphylococcus aureus TISTR 118 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก 45

4.15 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก 46

ค.1 สถานที่เพาะกล้ายี่หร่าที่ อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว จำนวน 450 ต้น โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มการทดลอง 61

ง.1 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร 64

ง.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของกรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้นต่างๆ 64

ง.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากการทดลองทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง 65

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

มนุษย์ในยุคปัจจุบันมีการดำรงชีวิตแตกต่างจากยุคก่อนทำให้พบเจอมลภาวะตลอดเวลา เช่น ควันรถยนต์ การใช้ชีวิตที่เร่งรีบ การรับประทานอาหารที่มีสารเคมี และความเครียดที่เกิดจากการทำงาน ล้วนก่อให้เกิดอนุมูลอิสระในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคหลายชนิด

อนุมูลอิสระเป็นสารที่ประกอบด้วยอิเล็กตรอนเดียว 1 ตัวหรือมากกว่า ซึ่งถูกสร้างขึ้นจากขบวนการเมตาโบลิซึมของเซลล์ ถ้าขบวนการนี้ไม่ถูกยับยั้งโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) อนุมูลอิสระจะทำลายเซลล์และทำให้การทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญเปลี่ยนแปลงไปและเมื่อปล่อยทิ้งไว้จะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์มากขึ้น (ประสงค์, 2553) อนุมูลอิสระในปัจจุบันเกิดขึ้นได้ง่ายทำให้มนุษย์ได้รับอนุมูลอิสระจากภายนอกและภายใน เช่น จากการรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง ภาวะเครียดของร่างกาย และสัมผัสกับแสงแดดนานๆ โดยรังสี UV (Ultraviolet) จะกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระที่ผิวหนังทำให้เกิดการทำลายชั้นของเส้นใยคอลลาเจนและอีลาสตินทำให้เกิดผิวหนังหมองคล้ำ เมื่อได้รับอนุมูลอิสระเป็นปริมาณมากจะส่งผลต่อร่างกายโดยทำให้เกิดผิวหนังเหี่ยว ความดันโลหิต โรคหัวใจ เส้นเลือดในสมองตีบ ต้อกระจก อัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน รวมถึงมะเร็งอีกด้วย (Bueraheng and Petchler, 2015) สารต้านอนุมูลอิสระจึงมีความจำเป็นต่อการดำเนินชีวิต เป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันหรือสารชีวโมเลกุลอื่นๆ จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายต้องการ และใช้เป็นประจำ ได้แก่ วิตามินซี และวิตามินอี

โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียต่างๆ ที่มีการปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกายที่มนุษย์เป็นกันทุกวันนี้ได้เป็นปัญหาที่สำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์และเป็นปัญหาของวงการแพทย์ ในปัจจุบันแบคทีเรียที่ก่อโรคต่างๆ ในมนุษย์มีความหลากหลายมากขึ้น โดยแบคทีเรียเกิดการพัฒนาตัวของมันเองเพื่อความอยู่รอด ทำให้มีการดื้อยาเพิ่มสูงขึ้น ยาที่ใช้ในการควบคุมแบคทีเรียที่ก่อโรคจึงไม่เพียงพอในการควบคุม ส่งผลให้เกิดการสูญเสียทั้งค่าใช้จ่ายในการรักษารวมไปถึงชีวิตของผู้ป่วย (อมรรัตน์ และคณะ, 2559) ดังนั้น การหาสารที่มีผลต่อการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย จึงมีความสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ในยุคปัจจุบัน

ในประเทศไทยมีความหลากหลายของพืชสมุนไพร โดยมีการนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นยารักษาโรค ใช้ปรุงแต่งอาหาร และนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น การเจริญเติบโตของพืชมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของพารามิเตอร์ดินที่แตกต่างกัน (Andrea *et al.*, 2017) มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (เรณู, 2559) ยี่หร่าเป็นพืชสมุนไพรที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง พบได้แพร่หลายอยู่ในบริเวณพื้นที่เขตร้อนและอบอุ่น แพทย์พื้นบ้านใช้ยี่หร่าในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น การติดเชื้อระบบทางเดินหายใจส่วนบน ท้องเสีย ปวดหัว โรคผิวหนัง และโรคปอดบวม

ดังนั้น โครงงานพิเศษนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของพารามิเตอร์ดินต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1) เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบในยี่หร่า

2) เพื่อศึกษาหาองค์ประกอบหลักจากสารสกัดหยาบในยี่หร่า

3) เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบในยี่หร่า

4) เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบในยี่หร่า

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ขอบเขตการเพาะปลูกยี่หร่า โดยใช้ปุ๋ยที่แตกต่างกัน คือ การปลูกในดินโดยไม่ต้องใส่ปุ๋ย, ใส่ปุ๋ยหมัก และใส่ปุ๋ยคอก กลุ่มการทดลองละ 150 ต้น โดยใส่ปุ๋ย 2 สัปดาห์ต่อครั้ง ระยะการเพาะปลูกทั้งหมด 3 เดือน จากนั้นนำดินไปวิเคราะห์เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมี นำยี่หร่าที่ผ่านการบดไปสกัดหยาบด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ และนำไปทดสอบการหาสารประกอบหลักของสารสกัดหยาบในยี่หร่าโดยการวิเคราะห์ก๊าซโครมาโตกราฟี (GC-MS) นำสารสกัดหยาบไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และการทดลองหาปริมาณฟินอลลิคทั้งหมด ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียโดยเชื้อที่ใช้ในการทดสอบเชื้อก่อโรคทั่วไป ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีของธาตุอาหารที่อยู่ในดินที่ใช้ปลูกยี่หร่า

2) ทราบถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในยี่หร่า และฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

3) สามารถนำผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ไปประยุกต์เพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย และผลข้างเคียงน้อยกว่าใช้สารเคมี

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นยี่หร่า

รูปที่ 2.1 ต้นยี่หร่า

ยี่หร่า (*Ocimum gratissimum* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ผักชี (Apiaceae) มีขนาดเล็ก นำมาใช้เป็นวัตถุปรุงแต่งกลิ่น มีการเพาะปลูกยี่หร่าที่ประเทศซาอุดีอาระเบีย, อินเดีย, จีน และแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ผลของยี่หร่ามีลักษณะเป็นรูปกระสวยหรือรูปไข่ ยาว 4-5 มิลลิเมตร เนื่องจากยี่หร่าได้รับความนิยมเป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากพริกไทยดำ การเพาะปลุกยี่หร่าใช้เวลานาน 3-4 เดือนในช่วงฤดูร้อน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ยี่หร่าเป็นพืชทนแล้งและเจริญได้ดีในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน องค์ประกอบของเมล็ดยี่หร่าระบุว่าใกล้เคียงกับองค์ประกอบน้ำมันระเหยยาก (ประมาณ 10%) เซลลูโลส, น้ำตาล, แร่ธาตุ และน้ำมันหอมระเหย ยี่หร่าเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปที่สำคัญทางอุตสาหกรรม ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยและ โอลีโอเรซิน (oleoresins) คิดเป็น 20-30% ของการส่งออกเครื่องเทศอินเดียทั้งหมด ช่วงส่งออกปีพ.ศ. 2557-2558 มีมูลค่า 155,500 ตันมูลค่า 306.37 ล้านเหรียญสหรัฐ (Chen *et al*, 2014)

ยี่หร่ามีปริมาณฟีนอลิกจำนวนมากซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ นักวิจัยได้วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันหอมระเหย ยังพบ cuminaldehyde terpinenes polyphenols และ flavonoids ทำหน้าที่เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญต่อการบริโภค, ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และเป็นสารประกอบที่สำคัญในการรักษาโรค โดยทั่วไปสารฟีนอลิคในพืชเป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) แสดงกิจกรรมทางเภสัชวิทยา ฟลาโวนอยด์เป็นสารประสอบที่สำคัญสำหรับพืชวงศ์นี้ กิจกรรมทางเคมีของฟลาโวนอยด์ขึ้นอยู่กับระดับฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ Flavonols flavones Dihydroflavonols หรือ flavanonols การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของยี่หร่าพบสารอัลคาลอยด์ (Alkaloid) แอนทราควิโนน (Anthraquinone), คูมาริน (coumarin), ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น ยี่หร่าเป็นแหล่งวิตามินบีรวมที่ดี เช่น ไทอะมีน, วิตามินบี 6, ไนอะซิน, ไร

โบฟวาวินและยังมีวิตามินอีกหลายชนิดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระเหมือนวิตามินอี, วิตามินเอ และวิตามินซี ยี่หร่าจึงเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระฟลาโวนอยด์และฟีนอลิก เช่น แคโรทีน, ซีแซนทิน และลูทีน ยี่หร่าประกอบด้วยน้ำมัน ไขมัน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทำให้ยี่หร่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งที่หลากหลาย (Bagchi and Puri, 1998)

2.1.1 วงจรการเจริญเติบโตของพืช

การเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชตลอดชีพจักร พืชจะต้องผ่านขั้นตอนต่าง ๆ นับตั้งแต่พืชงอกจากเมล็ด ไปเป็นต้นกล้า เมื่อต้นกล้ามีอายุมากขึ้นก็จะกลายเป็นต้นพืช ต้นพืชจะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่อไป ซึ่งการเจริญและพัฒนาการในช่วงแรก จะเป็นไปในทางการเพิ่มขนาดและน้ำหนักของต้นพืช เมื่อพืชมีอายุที่เหมาะสม หรือพัฒนาการมาจนถึงที่สุด โดยได้รับการกระตุ้นหรือชักนำจากสภาพภายนอกก็จะออกดอก ออกผล และสร้างเมล็ดขึ้นมา จากนั้นเมล็ดก็จะพัฒนาการเป็นต้นพืชต่อไป ส่วนพืชต้นเดิมนั้น บางชนิดอาจตายไป แต่บางชนิดอาจมีการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่อไปในลักษณะเดียวกับช่วงที่ต้นพืชยังไม่ออกดอก (สังคม, 2559) การที่พืชจะเจริญเติบโตจะต้องได้รับธาตุอาหารที่ดีและเพียงพอ ครบทุกธาตุในปริมาณและอัตราส่วนที่เหมาะสม ถ้าหากพืชได้รับธาตุอาหารไม่เพียงพอหรือขาดธาตุใดธาตุหนึ่ง พืชจะแสดงอาการผิดปกติให้เห็น เช่น สีของใบเปลี่ยนไป ใบไหม้ ยอดบิด เป็นต้นโดยทั่วไปการให้ผลผลิตของพืชนอกจากจะขึ้นกับพันธุกรรมของพืชและสภาพแวดล้อม ซึ่งได้แก่ ความชื้น ธาตุอาหารที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ โรค แมลง และวัชพืช เป็นต้น เนื่องจากผลผลิตและลักษณะต่างๆ จะเพิ่มขึ้น หรือลดลงมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับความชื้น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ชนิดของวัชพืช ความหนาแน่นของวัชพืช (ฐิติพร และคณะ, 2557)

2.1.2 การเตรียมตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืชเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญ ซึ่งต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช เพื่อให้ได้ชื่อพฤกษศาสตร์และได้ตัวอย่าง ที่ถูกต้องจะต้องไม่มีพืชอื่นปน ไม่มีโรคพืช เพราะจุลินทรีย์อาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ สถานที่ในการปลูก ระยะเวลาในการเก็บมีผลต่อปริมาณสาร จึงต้องบันทึกสถานที่ ช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง นอกจากนี้การปลูกโดยการใส่ปุ๋ยที่ต่างกันก็จะทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชแตกต่างกันได้ (นันทวัน, 2544)

2.2 แร่ธาตุอาหาร (Nutrients)

แร่ธาตุอาหารเป็นสิ่งจำเป็นสำคัญการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช เนื่องจากแร่ธาตุอาหารเป็นส่วนประกอบของอาหาร เป็นส่วนประกอบของสารอินทรีย์ในขบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจ เป็นส่วนประกอบของน้ำย่อยในกิจกรรมการสังเคราะห์แสง แร่ธาตุอาหารของพืชมีอยู่ด้วยกัน 16 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแตสเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส เหล็ก ทองแดง กำมะถัน โมลิบดีนัม สังกะสี คลอรีน โบรอน และแคลเซียม ซึ่งแร่ธาตุอาหารอยู่ในดินที่สำคัญ 3 แร่ธาตุ ดังนี้ (สัญญา, 2558)

2.2.1 ไนโตรเจน

ไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบของสารประกอบอินทรีย์ ได้แก่ กรดอะมิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิค น้ำย่อย และคลอโรฟิลล์ ถ้าขาดธาตุไนโตรเจนพืชจะไม่เจริญเติบโต ไนโตรเจนจะสูญเสียจากดินได้ง่ายมากในรูปของก๊าซไนโตรเจน พืชที่ขาดธาตุไนโตรเจนจะแสดงอาการที่เรียกว่า chlorosis โดยใบแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และหลุดร่วงไป ส่วนใบอ่อนยังคงมีสีเขียว เพราะธาตุนี้เคลื่อนย้ายจากใบแก่ไปยังใบอ่อน ในบางครั้งพืชที่ขาดธาตุ ไนโตรเจนส่วนของลำต้น ก้านใบ ปลายใบ จะมีสีชมพูถึงม่วงเพราะสะสมสาร anthocyanin เป็นจำนวนมาก แต่ถ้าพืชได้รับไนโตรเจนมากเกินไปพืชจะมีการเจริญเติบโตทางกิ่งใบมาก ใบพืช จะเป็นสีเขียวแก่ ลำต้นอวบอ้วน ระบบรากไม่เจริญเติบโต และเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางการสืบพันธุ์ช้าลง (ภัสสร และศศิวิมล, 2557)

2.2.2 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสจัดเป็นธาตุอาหารหลักของพืชที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตโดยช่วยในการสังเคราะห์แสง การหายใจ และการแบ่งเซลล์ ช่วยเร่งการออกดอก ติดผล และยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสารเคมีต่างๆภายในเซลล์ ของพืชฟอสฟอรัสในดินมักอยู่ในรูปออร์โทฟอสเฟต ซึ่งอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ แม้ว่าจะพบสารประกอบของ ฟอสฟอรัสในดินจำนวนมาก แต่พืชอาจแสดงอาการ จากการขาดฟอสฟอรัสได้ เช่น ลำต้นแคระแกร็น เกิดสีม่วงตามขอบใบ ไม่ติดดอกออกผล ซึ่งอาจมีสาเหตุ จากสารประกอบของฟอสฟอรัสเหล่านี้เกิดจากการตกตะกอนฟอสฟอรัสกับแคทไอออนต่างๆในดิน (ชนิสรา และคณะ, 2560)

2.2.3 โพแตสเซียม

คล้ายไนโตรเจนและฟอสฟอรัส สามารถเคลื่อนย้ายจากใบแก่ไปยังใบอ่อนได้ง่าย แต่โพแตสเซียมไม่เป็นองค์ประกอบของสารประกอบอินทรีย์ โพแตสเซียมทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์หรือตัวกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์หลายชนิด พืชใบเลี้ยงคู่จะแสดงอาการขาดธาตุโพแตสเซียมที่ใบแก่ที่อยู่ด้านล่าง ส่วนพวกพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเซลล์ที่ปลายใบและขอบใบจะตายก่อนแล้วแผ่ไปยังเซลส่วนอื่นที่อยู่ต่ำลงไป โพแทสเซียมทั้งหมดในดินซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นองค์ประกอบของแร่ธาตุจะปลดปล่อยโพแทสเซียมออกมาให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น โพแทสเซียมที่ถูกตรึงในดิน (จักรกฤษณ์, 2556)

2.3 ปุ๋ย

ปุ๋ย คือ สารอินทรีย์ อินทรีย์สังเคราะห์ อนินทรีย์หรือจุลินทรีย์ที่ไม่ว่าจะเกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือทำขึ้นเพื่อใช้เป็นธาตุอาหารพืชได้ไม่ว่าโดยวิธีใดหรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี, กายภาพหรือชีวภาพในดิน เพื่อบำรุงความเติบโตแก่พืช โดยสามารถแบ่งประเภทของปุ๋ยได้เป็น 3 ประเภท คือ ปุ๋ยเคมี หมายถึง ปุ๋ยที่ได้จากสารอนินทรีย์ หรืออินทรีย์สารสังเคราะห์ ปุ๋ยอินทรีย์ หมายถึง ปุ๋ยที่ได้จากวัสดุอินทรีย์ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ชื้น สับ หมัก บด ร่อน หรือด้วยวิธีการอื่นวัสดุอินทรีย์ต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพก่อน พืชจึงนำไปใช้ประโยชน์ได้ และปุ๋ยชีวภาพ หมายถึง ปุ๋ยที่ได้จากการนำจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่สามารถสร้างธาตุอาหาร หรือช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช มาใช้ในการ

ปรับปรุงดินทางชีวภาพ ทางกายภาพ หรือทางเคมี การใช้ปุ๋ย จึงมีความจำเป็นที่ต้องเปรียบเทียบผลของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมีที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูก (ศิราณี, 2557)

2.3.1 ปุ๋ยอินทรีย์

ปุ๋ยอินทรีย์ถือเป็นปุ๋ยที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุอาหารพืชเป็นองค์ประกอบและถือเป็นแหล่งของอินทรียวัตถุที่สำคัญซึ่งประโยชน์ของอินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์มีผลต่อดินทั้งในด้านสมบัติทางเคมี กายภาพ และชีวภาพ การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ จะช่วยให้พืชตั้งตัวได้ดีและเจริญเติบโตงอกงามได้อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ เนื่องจากดินทรายมีอินทรียวัตถุต่ำมาก การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ลงไปจะทำให้ดินอุ้มน้ำ และปุ๋ยได้ดีขึ้น (กรมพัฒนาที่ดิน, 2540)

2.3.1.1 สมบัติทางเคมีของปุ๋ยอินทรีย์

เมื่ออินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์เกิดการย่อยสลายจะค่อยๆปลดปล่อยธาตุอาหารพืชออกมา ทั้งธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และจุลธาตุ พืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่องในระยะยาว ปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ได้จากปุ๋ยอินทรีย์ยังช่วยเพิ่มความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวก ทำให้ธาตุอาหารพืชในดินถูกดูดซับเอาไว้ไม่ให้เกิดการสูญเสีย เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์ธาตุอาหารให้กับพืช (สรัญญา, 2558)

2.3.1.2 สมบัติทางกายภาพปุ๋ยอินทรีย์

ปริมาณอินทรียวัตถุที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทำให้ดินมีความร่วนซุย สามารถระบายน้ำและถ่ายเทอากาศได้ดีเนื่องจากจุลินทรีย์ย่อยสลายเศษวัสดุอินทรีย์ในปุ๋ยอินทรีย์จะสร้างสารบางชนิดขึ้นมาซึ่งเป็นตัวเชื่อมอนุภาคดินให้เกิดเป็นเม็ดดินและเกิดช่องว่างในดินมากขึ้น (มุกดา , 2545)

2.3.1.3 สมบัติทางชีวภาพปุ๋ยอินทรีย์

อินทรียวัตถุในปุ๋ยอินทรีย์ถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญต่อจุลินทรีย์ในดิน จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ต้องการพลังงานและธาตุอาหารจากการย่อยสลายอินทรียวัตถุ การเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในดินเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช ปุ๋ยอินทรีย์จึงช่วยเพิ่มและยกระดับปริมาณอินทรียวัตถุในดิน และส่งเสริมให้ดินมีสมบัติที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชมากยิ่งขึ้น จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช และยังช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ดินมีการระบายน้ำ และอากาศดีขึ้น ช่วยเพิ่มความคงทนให้แก่เม็ดดินเป็นการลดการชะล้างพังทลายของดินและช่วยรักษาหน้าดินไว้ (สุพจน์, 2544)

2.3.2 ประเภทของปุ๋ยอินทรีย์

ปุ๋ยอินทรีย์หมายถึงปุ๋ยที่เป็นสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ธาตุอาหารในปุ๋ยจะเกิด ประโยชน์ต่อพืชก็ต่อเมื่อผ่านกระบวนการย่อยสลาย โดยจุลินทรีย์เสียก่อน จึงปลดปล่อยออกมาในรูป ของสารอนินทรีย์ เช่น ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด เป็นต้น (ศิริพร, 2557)

2.3.2.1 ปุ๋ยคอก

ปุ๋ยคอก ได้แก่ มูลสัตว์ต่างๆ ที่อยู่ในรูปของเหลวและของแข็ง ส่วนใหญ่เป็นมูลสัตว์เลี้ยง เช่น มูลวัว ไก่ เป็ด เป็นต้น มูลสัตว์เหล่านี้ ประกอบด้วยอุจจาระและปัสสาวะของสัตว์ซึ่งเป็นส่วนของซาก พืชและซากสัตว์ที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายจากระบบย่อยของสัตว์ ปุ๋ยคอกส่วนใหญ่จะมีปริมาณและอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์และอาหารที่สัตว์กินเข้าไป ปุ๋ยคอกจะช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดินให้โปร่งและร่วนซุย การตั้งตัวของต้นกล้าเร็ว จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดสูง (ศิราณี, 2557) ดังแสดงในตาราง 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยคอก

ชนิดปุ๋ย	%ไนโตรเจนทั้งหมด	%ฟอสฟอรัสทั้งหมด	%โพแทสเซียมทั้งหมด
มูลวัว	0.3-1.2	0.2-0.4	0.2-3.1
มูลไก่	1.2-4.9	0.7-4.1	0.5-3.5
มูลหมู	0.6-2.2	0.2-0.5	0.4-1.3
มูลเป็ด	0.8-3.7	1.2-3.0	0.4-1.6

ที่มา : จงรักษ์ (2541)

2.3.2.2 ปุ๋ยพืชสด

ปุ๋ยพืชสด หมายถึง ปุ๋ยที่ได้จากการไถพรวนกลบพืชและคลุกเคล้าลงสู่ดินเพื่อปรับปรุงสมบัติของดินให้ดีขึ้น โดยได้จากการกลบเศษซากพืชที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวแล้ว หรือปลูกพืชบางชนิด ซึ่งเมื่อเจริญเติบโตถึงระยะที่พืชเริ่มออกดอกถึงระยะดอกบานจะไถกลบลงในดิน และหลังจากซากพืช ย่อยสลายโดยสมบูรณ์แล้วจึงปลูกพืชหลักหรือพืชเศรษฐกิจต่อไป สำหรับพืชที่นิยมปลูกเพื่อทำเป็นปุ๋ย พืชสด ได้แก่ พืชตระกูลถั่ว ยกตัวอย่างเช่น ปอเทือง ถั่วเขียว และโสนแอฟริกัน เป็นต้น (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

2.3.2.3 ปุ๋ยหมัก

ปุ๋ยหมัก หมายถึง ปุ๋ยที่ได้รับจากการหมัก สารอินทรีย์ให้สลายตัวผุพังตามธรรมชาติ โดยนำสิ่งเหล่านั้นมากองรวมกัน รดน้ำให้ชื้นแล้วปล่อยทิ้ง ไว้ให้เกิดการย่อยสลายตัวโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ จึงนำไปใช้ปรับปรุงดิน ในการเตรียมกองปุ๋ยหมัก อาจใส่ปุ๋ยเคมีเพื่อช่วยเร่งกิจกรรมของจุลินทรีย์ และเป็นการเพิ่มคุณค่าทางด้านธาตุอาหารของปุ๋ยหมักด้วย (ทิพวรรณ, 2542)

2.4 อนุมูลอิสระ (Antioxidant)

อนุมูลอิสระ หมายถึง สารซึ่งมีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอมหรือโมเลกุล อนุมูลอิสระที่มากเกินไปก่อให้เกิดอันตรายต่อไขมัน (low density lipoprotein) โปรตีน หน่วยสารพันธุกรรม

DNA และคาร์โบไฮเดรต อนุมูลอิสระในร่างกายมนุษย์ มีปัจจัยที่เกิดขึ้นมากมาย ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย วิถีชีวิตในปัจจุบันที่เปลี่ยนแปลงไป การไม่ใส่ใจสุขภาพเรื่องการไม่คัดเลือกคุณค่าและปริมาณของอาหารที่รับประทานที่ไม่เหมาะสม การพักผ่อนไม่เพียงพอ ไม่มีเวลาสำหรับการออกกำลังกาย การมีความเครียดท่ามกลางสภาวะแวดล้อมและมลภาวะรอบตัว ล้วนเป็นปัจจัยที่เพิ่มอนุมูลอิสระในตัวเราทั้งสิ้น ในวงการแพทย์พบว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เซลล์เสื่อม นำไปสู่การแก่ชราหรือความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง เป็นต้น ทำให้พบปัญหาสุขภาพจากโรคเรื้อรังมากขึ้นในช่วงอายุที่น้อยลง จากรายงานการศึกษาต่างๆพบว่าสารพฤกษเคมีจำนวนมากโดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ การได้รับสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิระจึงลดความเสี่ยงและความรุนแรงโรคเรื้อรังที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระได้ (Bagchi and Puri, 1998)

2.5 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ

ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจน เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ มีสาเหตุมาจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกาย ดังนี้

2.5.1 ปัจจัยภายในร่างกาย

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมาย ที่เกี่ยวข้องกับทั้งการสร้างและการสลายโมเลกุลของ สารที่เรียกว่ากระบวนการเมทาบอลิซึมซึ่งถือเป็น สาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเผาผลาญสารอาหารของร่างกายเพื่อให้เกิดพลังงาน แต่กระบวนการเผาผลาญนี้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นนั่นเอง (Kotliarov *et al.,* 2009)

2.5.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อสุขภาพที่สำคัญ นอกจากปัจจัยภายในซึ่งเป็นเรื่องของบุคคลแต่ละคนแล้ว ปัจจัยภายนอกนับว่ามีความสำคัญไม่น้อยในแง่ของผลกระทบต่อสุขภาพ ปัจจัยภายนอกอาจแบ่งออกได้ ดังต่อไปนี้ (Voest *et al*, 1994)

1) ยารักษาโรค ยาบางชนิดที่รับประทานเข้าไป ในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดย เฉพาะอย่างยิ่ง ยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin), แอนทราไซคลินส์ (antracyclines) และเมโธทรีเสต (methotrexate) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (prooxidation) (Gressier *et a.l*, 1994)

2) รังสี การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (Xray), รังสีแกมมา (γ-ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิด อนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงาน ให้กับน้ า ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิด ปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น (Halliwell *et al.*, 1995)

3) ควันบุหรี่ ในควันบุหรี่มีส่วนประกอบของ ไนตริกออกไซด์ (NO), ไนโตรเจนออกไซด์ (NO2) และ เพอรอกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) รวมทั้งสารมลพิษ ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และคาร์บอนเตรตตะคลอ ไรด์ (CCl_4) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอ็นไซม์ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเจส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากใน เซลล์ตับและพบได้ในเซลล์ปอดและลำไส้เล็ก ทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ดังกล่าว (Bast *et al*., 1991)

4) โอโซน โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็น สารออกซิไดส์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮ ดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (Valacchi *et al*, 2004)

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยปกติแล้วการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีอย่างเพียงพอต่อการเกิดอนุมูลอิสระขึ้น ภายในร่างกาย แต่หากมีสภาวะผิดปกติในร่างกาย เช่น ความเครียด การนอนดึกติดต่อกันนานๆ การรับประทานยาที่มีผลลด antioxidant enzyme หรือสภาวะโรคต่างๆ ก็อาจจะทำให้การสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจนเสียสมดุลระหว่าง antioxidant และอนุมูลอิสระเกิดเป็นภาวะ oxidative stress อนุมูลอิสระที่ไม่ได้ถูกกำจัดจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่างๆได้ เช่น เป็นต้นเหตุของภาวะหลอดเลือดอุดตัน มะเร็ง Parkinson รวมถึงอาการอักเสบต่างๆ จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระใน ร่างกายนั้นมีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคและความเสื่อมของร่างกายเป็นอย่างมาก สารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในอาหารและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติส่วนใหญ่ เช่น วิตามินอี และวิตามินซี สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และฟีนอลิก โดยลักษณะสำคัญของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ที่มีร่วมกัน (บังอร และศศิลักษณ์, 2549)

2.6.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (nonnutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิค โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชั่น (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ โดยการให้ H แก่อนุมูลอิสระ นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอล ที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล OH ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชั่น คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะ ดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาติหลายชนิด สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี (Sanchez-Moreno., 2002)

2.6.2 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีหลายกลไกดังนี้ จับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) เป็นที่ทราบดีว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Valacchi *et al*., 2004)

2.7 การสกัด

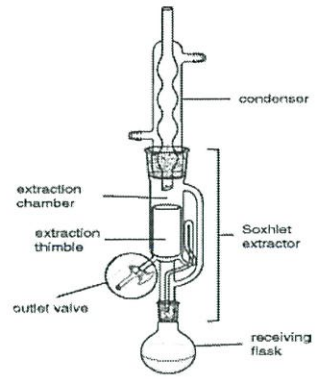
การสกัดเป็นวิธีแยกสารที่เป็นของเหลวปนกับของเหลวหรือของแข็งปนของแข็ง โดยอาศัยสมบัติการละลายของสาร และเป็นการแยกสารที่ต้องการออกจากส่วนต่างๆ ของพืชหรือของผสม หลักการสำคัญของการสกัดด้วยตัวทำละลาย คือ การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการออกมาให้มากที่สุด เพราะสารแต่ละชนิดจะละลายในตัวทำละลายต่างกัน และละลายได้ปริมาณต่างกัน เช่น ในยี่หร่าจะมีทั้งสารที่มีสีและสารที่มีกลิ่น โดยสารที่มีสีจะละลายในเอทานอลได้ดีกว่าในน้ำ แต่สารที่มีกลิ่นจะละลายในน้ำได้ดีกว่าในเอทานอล (ศศิกัญญา, 2554)

2.7.1 หลักการสกัดสารด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลายโดยเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงในตัวอย่างที่ต้องการสกัด จากนั้นก็เขย่าหรือนำไปต้ม เพื่อให้ตัวอย่างหรือสารที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลาย สารสกัดได้นั้นยังเป็นสารละลาย เพื่อต้องการทำให้สารบริสุทธิ์ ควรนำสารที่ได้ไปแยกตัวทำละลายออกมาก่อน โดยนำไประเหยหรือทำการกลั่นต่อไป (ศรัญญา, 2559)

2.7.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดสารและแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีเป็นการทำให้สารมีความบริสุทธิ์ขึ้นโดยอาศัยการละลายที่แตกต่างกัน และเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการแยกสารต่างๆ ออกจากสารผสม การทดลองนี้จะสกัดสารรงควัตถุ (pigment) ออกจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและจากผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป และนำสารที่สกัดได้ไปตรวจสอบความบริสุทธิ์และความเหมือนกัน (identity) ด้วยวิธีโครมาโทกราฟฟี และการแยกสารบางชนิดออกจากสารผสมโดยใช้ตัวทำละลายสกัดออกมานั้นเป็นเทคนิคที่ใช้กันมากในเคมีอินทรีย์ สารผสมที่นำมาสกัดเป็นสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยการสกัดมีด้วยกันหลายวิธี แต่วิธีที่ได้รับความ นิยมคือการใช้ตัวทำละลายในการสกัด เนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่าย ค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำ ตัวทำละลายที่นิยมนำมาใช้สกัดหลายชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล เมทานอล อะซิโตนและเฮกเซน เป็นต้น (เอนก และบุณยกฤต, 2559)



รูปที่ 2.2 เครื่องสกัดน้ำมันหอมระเหย

ที่มา : https://www.researchgate.net/figure/Modified-Soxhlet-extractor-for-the-extraction-of-PCBs-in-soil_fig7_272365906

2.7.3 การสกัดด้วยเอทานอล (Rotary evaporator)

การสกัดด้วยเอทานอลเป็นเครื่องที่ใช้ระเหยสารตัวทำละลายออกจากสารละลายตัวอย่าง เพื่อให้ปริมาณสารละลายตัวอย่างที่ต้องการนั้นเข้มข้นขึ้น ด้วยการให้ความร้อนจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ และระบบสุญญากาศ เพื่อลดจุดเดือดของสารตัวทำละลายตัวอย่างให้ต่ำลง สามารถปรับอัตราเร็วรอบของการหมุนตั้งแต่ 20 ถึง 180 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการระเหยสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยการกลั่นเพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ มีอ่างให้ความร้อนที่สามารถใช้ได้กับน้ำ ควบคุมอุณหภูมิแบบอิเล็กทรอนิคส์ ใช้พลังงานไม่น้อยกว่า 1,300 วัตต์ โดยควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่ 20 องศาเซลเซียส ถึง 95 องศาเซลเซียส หรือตัวอ่างด้านในทำด้วยสแตนเลส ออกแบบให้สามารถใช้กับขวดกลั่นได้หลายขนาดตั้งแต่ 50 มิลลิลิตร ถึง 4 ลิตร หรือมากกว่าอ่างให้ความร้อนสามารถรับกำลังไฟฟ้าจากเครื่องโดยระบบสัมผัสเพื่อเพิ่มความสะดวกในการเคลื่อนย้ายและเปลี่ยนถ่ายสารตัวกลางให้ความร้อนโดยไม่ต้องดึงสายไฟออก อ่างให้ความร้อนมีระบบป้องกันอุณหภูมิสูงเกิน (over temperature protection) สามารถปรับระดับเลื่อนขึ้น/ลงของขวดใส่สารแบบ manual พร้อมระบบ quick action jack โดยการเลื่อนขึ้น-ลงของที่จับ (handle) เพื่อความสะดวกในการใช้งาน สามารถปรับมุมของฟลาสก์ที่จุ่มลงในอ่างให้ความร้อน เพื่อความเหมาะสมกับฟลาสก์ขนาดต่างๆ สามารถใส่หรือถอดฟลาสก์ใส่สารตัวอย่างเข้ากับเครื่อง โดยการหมุนตัวจับยึด (clip) ได้สะดวกโดยไม่ต้องถอดตัวจับยึดออกจากเครื่อง (กนกพร, 2552)

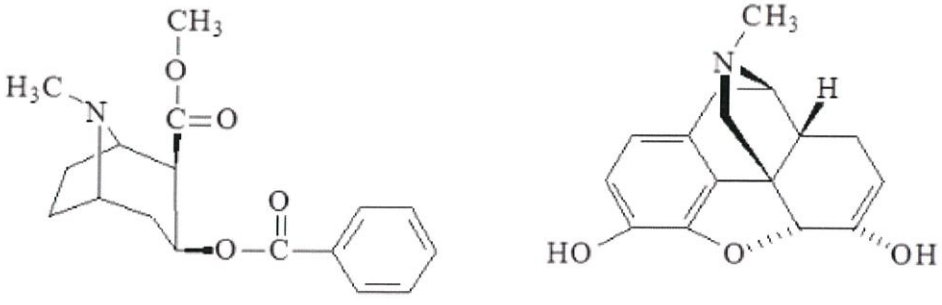
รูปที่ 2.3 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ
ที่มา : stdb.most.go.th/equipment_detail.aspx?Id=886

2.8 สารพฤกษเคมีในพืช

สารพฤกษเคมีในพืช คือ สารประกอบที่พืชสร้างขึ้นในธรรมชาติ และมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช สารพฤกษเคมีจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนที่เชื่อมโยงกับอะตอมไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน หรืออะตอมคาร์บอนอื่นๆ สารพฤกษเคมีที่พบบ่อยในพืช ได้แก่ อัลคาลอยด์ไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ น้ำมันหอมระเหย

2.8.1 แอลคาลอยด์(Alkaloids)

อัลคาลอยด์ เป็นสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ มีฤทธิ์เป็นด่าง ในโมเลกุลประกอบด้วยธาตุไนโตรเจนอย่างน้อย 1 อะตอม พบมากในพืช แต่อาจพบได้ในแบคทีเรีย รา และสัตว์ เป็นสารที่มักจะมีพิษและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลายระบบ อัลคาลอยด์จึงถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยา รักษาแผลในกระเพาะและลำ ไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุม การเต้นของหัวใจ และอัลคาลอยด์บางตัวมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (ศิริพร และพจนพร, 2559)

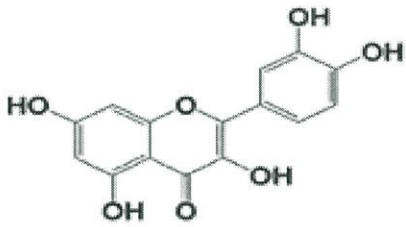


Cocaine Morphine

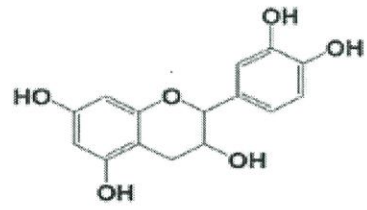
รูปที่ 2.4 แสดงกลุ่มตัวอย่างของสารแอลคาลอยด์
ที่มา : https://www.decodedscience.org/drugs-nature-chemistry-addictivealkaloids/53057

2.8.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) เป็นกลุ่มหนึ่งของสารประกอบโพลิฟีนอล สามารถพบได้มากมายในผักและผลไม้ จะเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชั่น (hydroxylation reaction) และปฏิกิริยาเอสเตอริฟิเคชั่น (esterification reaction) กับน้ำตาล และบางครั้งก็มีหมู่เอซิล (acyl group) อยู่ในโมเลกุลด้วยเช่นเดียวกับแอนโธไซยานิน (anthocyanin) ฟลาโวนอยด์หลายชนิดมีน้ำตาลเป็นโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharides) หรือ ไดแซคคาไรด์ (disaccharides) อยู่ในโมเลกุลด้วย ซึ่งน้ำตาลที่พบ คือ กลูโคส (glucose) และ แรมโนส (rhamnose) ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อมนุษย์และสัตว์แตกต่างกันมากมาย เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านไวรัส (ณัฏฐิกา,2549)



Quercetin



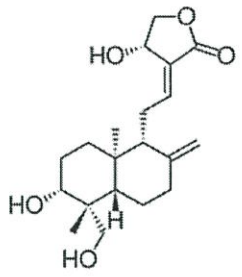
Catechin

รูปที่ 2.5 แสดงตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา : http://huqqies456.blogspot.com/2014/02/hplc.html

2.8.3 เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids)

เทอร์พีนอยด์เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยหน่วยที่เรียกว่า หน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) ซึ่งเป็นโซ่แขนง (branched chain) ของคาร์บอน 5 ตัว มีพันธะไม่อิ่มตัว (unsaturated bonds) 2 พันธะ ดังนั้นในบางครั้งอาจเรียกไอโซพรีนอยด์ (isoprenoids) โครงสร้างของสารประกอบกลุ่มเทอร์พีนอยด์สร้างขึ้นมาจากหน่วยไอโซพรีนที่เชื่อมเข้าด้วยกันแบบหัวไปหาง (head to tail) ทำให้มีรูปแบบของวงแหวนต่างกัน จำนวนของหน่วยไอโซพรีนที่เชื่อมเข้าด้วยกันใช้ในการแบ่งประเภท ของสารประกอบเทอร์พีนอยด์ซึ่งพบกระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะพืชชั้นสูง นอกจากนี้ยัง พบในเชื้อรา แมลง จุลินทรีย์ (microorganisms) และสิ่งมีชีวิตในทะเล (marine organisms) เป็น กลุ่มสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย น้ำมันหอมระเหยจัดเป็นสารเทอร์พีนอยด์ที่มีองค์ประกอบ เป็นพวกโมโนเทอร์พีนอยด์และเฮมิเทอร์พีนอยด์ (hemiterpenoids) ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น สามารถต้านไวรัสได้ ตัวอย่างเช่น Andrographolide ที่พบในต้นฟ้าทะลายโจร (สายใจ และอาอีเซาะ, 2559)



Andrographolide

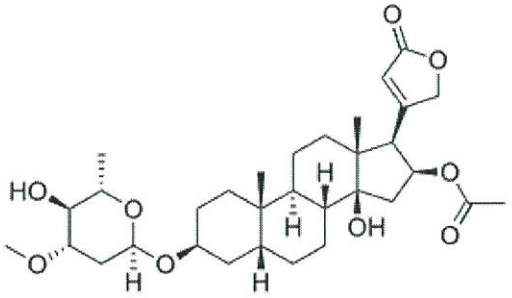
รูปที่ 2.6 แสดงตัวอย่างสารกลุ่มเทอร์ปินอยด์

ที่มา : http://www.maysarherbals.in/phytochemicals.html

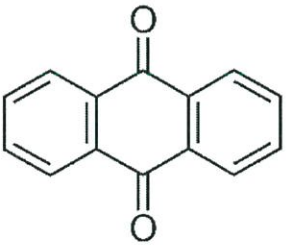
2.8.4 สารกลุ่มไกลโคไซด์

ไกลโคไซด์เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดจากอะไกลโคน จับกับส่วนที่เป็นน้ำตาลเรียกไกลโคน ละลายน้ำได้ดีโครงสร้างของอะไกลโคน สารกลุ่มไกลโคไซด์ ได้แก่ คาร์ดิเอ็กไกลโคไซด์ มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจ และระบบการไหลเวียนของโลหิต เช่น ใบยี่โถ แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ มี

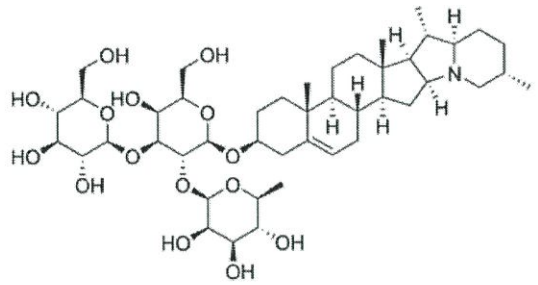
ฤทธิ์เป็นยาระบาย ยาฆ่าเชื้อ และสีย้อมผ้า เช่น ใบมะขามแขก ใบขี้เหล็ก ใบชุมเห็ดเทศ ใบว่านหางจระเข้ ซาโปนินไกลโคไซด์ เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ เช่น ลูกประคำดีควาย ไซยาโนเจนนีติกไกลโคไซด์ สารกลุ่มนี้เมื่อถูกย่อยจะได้สารจำพวกไซยาไนด์ เช่น รากมันสำปะหลัง ผักสะตอ ผักหนาน ผักเสี้ยนผี กระเบาน้ำ ไอโซไทโอไซยาเนทไกลโคไซด เป็นสารจำพวกไอโซไทโอไซยาเนท ฟลาโวนอลไกลโคไซด์ เป็นสารสีที่พบ ได้แก่ สีแดง เหลือง ม่วง น้ำเงิน เช่น ดอกอัญชัน (ศิรประภา, 2550)



(ก) คาร์ดิเอ็กไกลโคไซด์



(ข) แอนทราควิโนนไกลโคไซด์



(ค) ซาโปนินไกลโคไซด์

รูปที่ 2.7 แสดงกลุ่มตัวอย่างของกลุ่มไกลโคไซด์

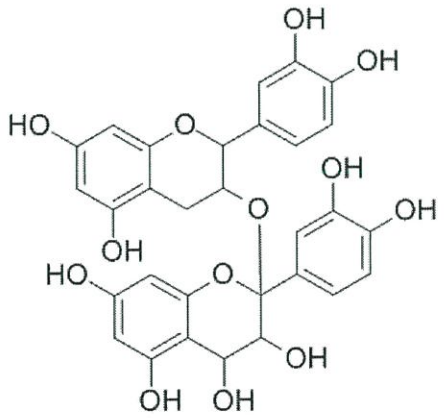
ที่มา : (ก) https//th.wikipedia.org/wiki/คาร์ดิแอกไกลโคไซด์

(ก) wiki/Fil:Anthraquinone_acsv.svg

(ข) http://www.careandliving.com/ซาโปนิน

2.8.5 แทนนิน (Tannins)

แทนนินเป็นสารประกอบพวกฟีนอล สามารถละลายน้ำได้เป็นสารที่พบในพืชหลายชนิด มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีสมบัติเป็นกรดอ่อน รสฝาด แทนนินใช้เป็นยาฝาดสมานและยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผลไฟไหม้สมุนไพรที่มีแทนนิน เช่น เปลือกทับทิม (*Punica granatum* L.) เปลือกอบเชย (*Cinnamomum* spp.) ใบฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) ตัวอย่างเช่น Proanthocyanidins (เรณู, 2559)



Proanthocyanidins

รูปที่ 2.8 แสดงตัวอย่างของสารกลุ่มแทนนิน

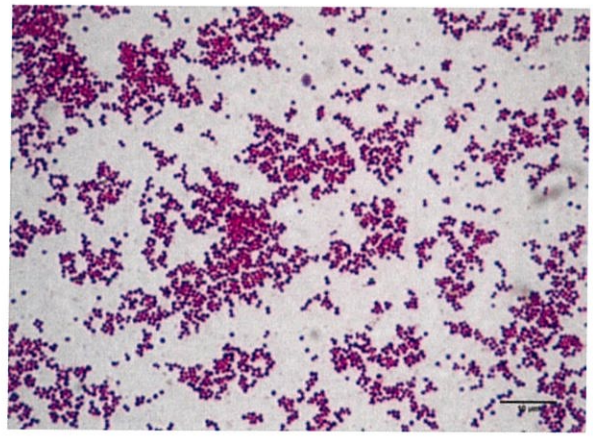
ที่มา : http://www.chemfaces.com/natural/Proanthocyanidins-CFN99556.html

2.9 แบคทีเรียก่อโรคทั่วไป

แบคทีเรียก่อโรค หรืออาจเรียกว่า การติดเชื้อ หรือการอักเสบติดเชื้อ(Infection) ให้แก่มนุษย์ได้ด้วยวิธีการหลายอย่างเช่น สร้างสารพิษ (Toxin) ออกมาจากตัวแบคทีเรีย และสารพิษนั้นจะทำลายเซลล์ของมนุษย์หรือทำให้เซลล์ของมนุษย์ทำหน้าที่ผิดไป เช่น *Staphylococcus* จะสร้างสารโคแอกูเลส (Coagulase) คอยขัดขวางการแข็งตัวของเลือด หรือ *Escherichia coli* สร้างสารพิษเอ็นโดท็อกซิน (Endotoxin) ทำให้เกิดภาวะช็อกกระตุ้นให้ร่างกายตอบสนองด้วยการอักเสบ เกิดอาการปวดบวมแดง ร้อนในบริเวณที่มีการติดเชื้อ และผลของการอักเสบส่วนหนึ่งจะทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อปกติที่อยู่ใกล้เคียง และเกิดอาการไข้ตัวร้อนแบคทีเรียบางชนิดจะเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ของมนุษย์ แย่งอาหารของเซลล์ และทำให้เกิดการตายของเซลล์ (วารีรัตน์, 2557)

2.9.1 *Staphylococcus* aureus

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียรูปร่างทรงกลมติดสี แกรมบวก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นกลุ่มๆ ทำให้ดูเหมือนพวงองุ่น แต่จะพบเป็นเซลล์เดี่ยวเป็นคู่และเป็นสายสั้นๆ เชื้อนี้ไม่สร้างสปอร์ไม่เคลื่อนไหว การติดต่อเชื้อมาสู่คนติดต่อโดยการรับประทานหรือดื่มน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง สารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อบุลำไส้ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ส่วนมากไม่มีไข้บางรายรุนแรงอาจช็อคได้ แหล่งที่พบเชื้อ *S.aureus* พบได้ตามส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์ เช่น จมูก มือ แผลเรื้อรัง หรือบริเวณเสื้อผ้า อากาศ และฝุ่นละออง (วชาลิสา และอานุภาพ, 2558)



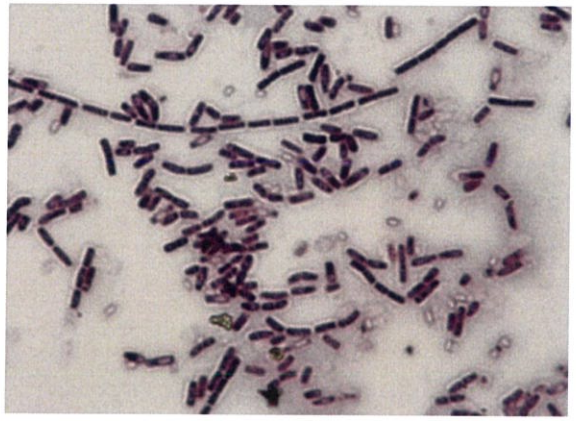
รูปที่ 2.9 ภาพแสดงลักษณะเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : http://www.indyconsumers.org/main/health-service-165/81-570921016.html

2.9.2 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแท่ง เรียงตัวเป็นสายและสร้างเอนโดสปอร์เจริญได้ดีทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อสุขลักษณะความสะอาดของอาหาร น้ำ และเครื่องดื่ม หากติดเชื้อภายใน 8-16 ชั่วโมง ต่อเนื่องจนถึง 12-24 ชั่วโมง

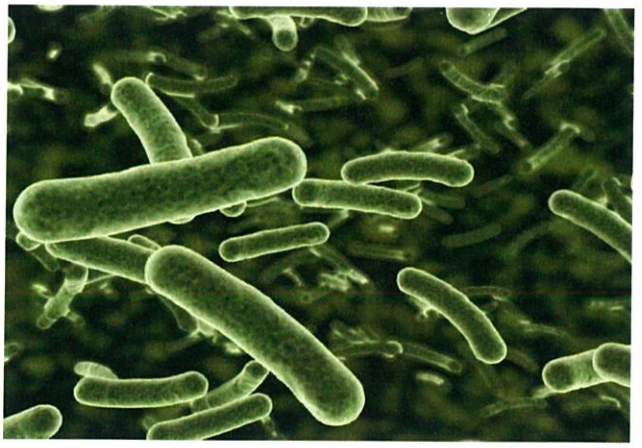
จะเกิดอาการท้องร่วง ปวดท้องอย่างรุนแรง อุจจาระเหลวเป็นน้ำ อาเจียนรุนแรง แหล่งที่พบเชื้อ *B.cereus* พบได้อยู่ตามธรรมชาติ ดิน น้ำ พืช และอาหาร (วารีรัตน์, 2557)



รูปที่ 2.10 ภาพแสดงลักษณะเชื้อ *Bacillus cereus*
ที่มา : http://www.stepwards.com/?page_id=16585

2.9.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์ม อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์ มีรูปร่างเป็นแท่ง ติดสีแกรมลบ สามารถเจริญได้ดีได้สภาวะมีหรือไม่มีออกซิเจน เคลื่อนที่อยู่ใช้ Paritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 10-40 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 35-37 องศาเซลเซียส หากติดเชื้อผู้ป่าวจะมีอาการอุจจาระบ่อยครั้ง มีลักษณะมูกเลือด อาการซีด เนื่องจากสารพิษของเชื้อไปทำลายเม็ดเลือดแดงทำให้เกิดสภาวะไตวายได้ ซึ่งส่วนใหญ่ก่อโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร แต่บางสายพันธุ์สามารถก่อโรคนอกระบบทางเดินอาหาร การติดเชื้อของบาดแผลซึ่งก่อโรคได้ทั้งคนคนปกติและคนที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง แหล่งที่พบเชื้อ *E. coli* พบได้จากวัตถุดิบปนเปื้อนในการผลิต อุปกรณ์ต่างๆและน้ำแข็ง (ธนภพ และคณะ, 2558)

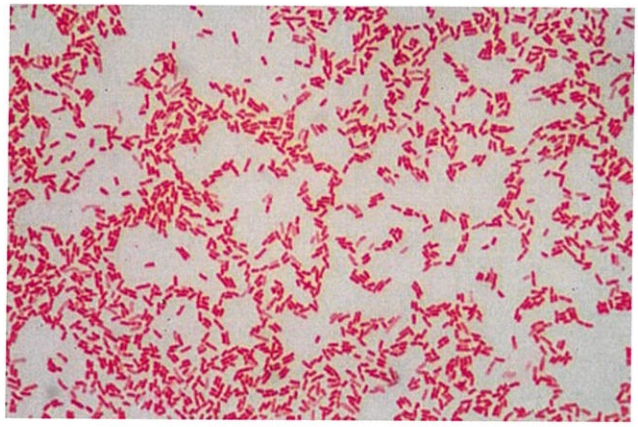


รูปที่ 2.11 ภาพแสดงลักณะเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา : https://www.livemint.com/Sundayapp/YdjZePiAoMu17o2AtipqgL/E-coli-Why-so-famous.html

2.9.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa เป็นเชื้อแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อน เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาวะแวดล้อมที่มีความชื้น เนื่องจาก *Pseudomonas aeruginosa* ก่อให้เกิดโรคในคนได้ จึงทำให้ได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยเป็นอย่างมาก เชื้อนี้มักก่อโรคในผู้ป่วยที่อยู่ในโรงพยาบาล ผู้ที่เป็นมะเร็งหรือผู้ที่มีแผลไฟไหม้สาเหตุการตายของผู้ป่วยพบว่าเกี่ยวข้องกับภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ การดื้อยาของเชื้อและการที่เชื้อสามารถผลิต extracellular enzyme และ toxin (ปรินทร์ และคณะ, 2552)



รูปที่ 2.12 ภาพแสดงลักษณะเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : https://www.news-medical.net/whitepaper/20150526/Type-IV-pili-influence-swarming-of-Pseudomonas-aeruginosa-an-overview.aspx

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นุรดีนา (2552) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากหยวกกล้วยและหัวปลีกล้วยป่าในตัวทำละลายเอทานอล โดยศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี DPPH โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นเปรียบเทียบค่า IC_{50} ผลการวิจัยพบว่า ช่วงความเข้มข้นน้อยในการทำปฏิกิริยากับ DPPH สามารถวัดค่าความดูดกลืนแสงของสารละลายได้ดีทั้งนี้เนื่องจากสารนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและทำปฏิกิริยาในช่วงที่เหมาะสม พบว่าสารสกัดมีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่ากรดแอสคอร์บิก

สุวรรณี และคณะ (2555) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด โดยใช้การจัดทรีทแมนต์แบบแฟคตอเรียลในการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (2 x 3 Factorial in CRD) 3 ซ้ำ ทำการศึกษาภายใต้ปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัย A วิธีการสกัด 2ระดับ (ผงหยาบและสกัดด้วย

เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์) ปัจจัย B ชนิดของพืชสมุนไพรพื้นบ้าน 5 ระดับ (ใบบัวบก,ใบขี้เหล็ก,ใบตำลึง ,ใบแมงลัก,และใบกระเพรา) จากการศึกษาพบว่าใบบัวบกที่สกัดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมดสูงที่สุด คือ 56.254 มิลลิกรัมต่อกรัม ($P<0.01$) มีค่าความสามารถของปริมาณสารที่ทำการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่งต่ำที่สุด คือ 2.510 มิลลิกรัมต่อกรัม ($P<0.01$) และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia Coli* (0157:H7) และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด คือ 79.690 เปอร์เซ็นต์ และ 29.77 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.01$) ตามลำดับ

ชาลิสา และอานุภาพ (2557) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดด้วยเอทานอลจากใบ ผล เปลือกกรวยป่า ใบ ผล กะทกรกป่า ใบข่อย ใบ ผลครอบฟันสี ใบ ผลโคกกระออม ใบฟักข้าว ใบละหุ่ง ใบเล็บเหยี่ยว ใบสาบเสือ และใบ เนื้อราก เปลือกรากสามสิบ ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากผลกรวยป่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดี โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง ของบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 12.97 มิลลิเมตร สารสกัดจากเปลือกกิ่งกรวยป่า ใบสาบเสือ และ เปลือกรากสามสิบ มีค่าเท่ากับ 6.95, 9.12, และ 6.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากผลกรวยป่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ MRSA NPRC001R ได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 13.07 มิลลิเมตร และสารสกัดจากใบสาบเสือ มีค่าเท่ากับ 8.91 มิลลิเมตร เมื่อทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ด้วยวิธี Broth micro dilution สารสกัดจากผลกรวยป่า มีค่า MIC/MBC ต่อเชื้อ *S. aureus* และ MRSA NPRC001R ได้ดีที่สุดเท่ากับ 0.64/0.64 และ 1.28/2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จุฑารัตน์ (2559) ศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกดัหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆ ของแคนา ทั้งหมด 5 ส่วน ได้แก่ ดอก ใบ กิ่ง ฝัก และเมล็ด จากการศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆ ของแคนา พบสารพฤกษเคมี คือ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ นอกจากนี้ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (9.27 ± 1.95 ถึง 63.38 ± 2.00) ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (2.66 ± 0.05 ถึง 33.06 ± 2.28) และปริมาณสาร ต้านอนุมูลอิสระรวม (203.85 ± 7.25 ถึง 940.39 ± 26.46) และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging พบว่าที่ความเข้มข้น 500 µg/mL สารสกดัหยาบเอทานอล จากใบแคนามีฤทธิ์ของการต้านอนุมลูอิสระมากที่สุดเท่ากับ 98.60 ± 1.23% รองลงมาคือ กิ่ง (82.75 ± 1.71%) ฝัก (56.24 ± 2.04%) เมล็ด (44.10 ± 3.23%) และดอก (42.48 ± 3.35%) จากการศึกษาฤทธิ์ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิพอกซิเดสของสารสกดัหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆ ของแคนา จากผลข้างต้นพบว่าสามารถนำส่วนต่างๆ ของแคนามาพัฒนาและใช้ประโยชน์ทางด้านยาหรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ต่อไปอีกด้วย

ศรัญญา (2559) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของการสกัดจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ผัก โขมผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 0.1 M HCl ใน 10% Ethanol และ ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 50 และ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 30 60

และ 120 นาที ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ผลการศึกษาพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH มีค่าเท่ากับ 0.568 ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ลดลงเท่ากับ 0.119 0.140 0.131 และ 0.074 ตามลำดับ

สายใจ และอาอีเซาะส์ (2559) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากดาหลา จำนวน 5 ส่วน ได้แก่ ส่วนราก เหง้า ดอก ลำต้น และใบ สกัดโดยการหมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 5 ชนิดคือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตน เมทานอล และเอทานอลต่อแบคทีเรียก่อโรคในพืชพบว่าสารสกัดหยาบดอก ลำต้นและเหง้าในอะซิโตน รวมถึงเหง้าในเอทานอลแสดงค่า MBC ระหว่าง 100-200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รากในเอทานอลมีค่า MBC ระหว่าง 200 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่ยับยั้ง แบคทีเรียทดสอบ และความเข้มข้นของสารสกัดที่ฆ่าแบคทีเรียทดสอบ (MBC) ได้ เบื้องต้นพบว่าสาร สกัดหยาบที่ออกฤทธิ์ได้ดี ได้แก่ ดอกในเฮกเซน แสดงโซนยับยั้ง P. *carotovorum* และ X. *campestris* pv. *campestris* เท่ากับ 14.32 มิลลิเมตร และ 12.98 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Rerey *et al*. (2012) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาส่วนประกอบของผลผลิตกรดไขมันและองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยและองค์ประกอบของสารฟีนอลิกองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยรวมทั้งปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดยี่หร่า (*Cuminum cyminum* L.) ภายใต้ภาวะแห้งแล้ง อะโรเมติกที่พบมากที่สุดในเมดิเตอร์เรเนียน พืชมีระดับน้ำแตกต่างกันคือ control (C) น้ำบาดาลที่มีค่าปานกลาง (MWD) และน้ำบาดาลที่มีค่าสูงสุด (SWD) พบว่าปริมาณฟีนอลทั้งหมดอยู่ในเมล็ดที่ได้รับการบำบัด (MWD และ SWD) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการบำบัดด้วยน้ำอาจช่วยควบคุมการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเมล็ดยี่หร่าโดยมีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการและอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสารละลาย 4 ชนิด ได้แก่ DPPH, carotene และ linoleic acid และลดการใช้พลังงานแสดงให้เห็นว่าเมล็ดที่ทำการทดลอง MWD และ SWD มีค่ามากที่สุด

Akrami *et al*. (2015) ศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสาหร่าย Zataria multiflora และเมล็ดยี่หร่าของประเทศอิหร่านและยุโรปเช่นเดียวกับสารสกัดบริสุทธิ์และต่อมาเป็นสารออกฤทธิ์ที่รวมอยู่ในกระดาษซึ่งผลิตขึ้นที่ห้องปฏิบัติการหรือห้องสุขาเป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ใช้งานอยู่ มีการใช้ขั้นตอนสองขั้นตอนในการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและการศึกษาทางจุลชีววิทยากับเชื้อ *Staphylococcus aureus, Pseudomonas* sp., *Salmonella entericasub* sp. *enterica* และ *Escherichia coli* แบคทีเรียทั้งหมดถูกยับยั้ง เกิดจากน้ำมันหอมระเหยจาก Zataria 4% ถึง 6% (w / w) ในสารเคลือบผิวใช้ Zataria มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด สารประกอบที่รับผิดชอบเกี่ยวกับคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระ

Moghaddam *et al*. (2015) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยของผลกระเทียม (*Cuminum cyminum* L.) ในระยะวัยเจริญเติบโต 4 ระยะ (วัยอ่อนวัย

กลางวัยก่อนวัยและวัยเจริญพันธุ์) ให้ผลตอบแทนสูงที่สุดและต่ำสุด (4.3% and2.7%) ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยถูกวิเคราะห์โดย GC และ GC / MS ผลการทดลองพบว่าปริมาณของเอนไซม์ฟีนีนและเตเทนินลดลงในขณะที่ระดับของ p-cymene, เทอร์ไพแนล, อัลดีไฮด์ยี่หร่าและ safranal เพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการสุก ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากผลไม้กระป๋องที่เก็บเกี่ยวในช่วงวัยอ่อนวัยกลางเดือนก่อนวัยและช่วงเต็มที่เต็มวัยมีค่าเท่ากับ 25.52, 40, 36.86 และ 30 mg GAE / g EO ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารสังเคราะห์ออกซิแดนท์ BHT (butylatedhydroxytoluene) สรุปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยยี่หร่าถือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร

Racha *et al.* (2018) ศึกษาทอซ่าปอ (*Corchorus olitorius* L.) เป็นหนึ่งในพืชตูนิเซียที่นิยมใช้กันมาเป็นสมุนไพร การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและสมบัติทางฟีนอลของสารสกัดจากเชื้อ *C. olitorius* ศึกษาผลของสารตัวทำละลายต่างๆ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับโพลีฟีนอลและการสกัด flavonoids ตามที่ได้รับการยืนยันโดยการวิเคราะห์ LC-MS ในความเป็นจริงสารสกัดเอทานอล มีปริมาณกรดฟีนอลและฟลาโวนอยด์มากที่สุด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการสกัดหยาบเมื่อเทียบกับกลุ่มอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical (DPPH) 70.24 ± 0.19% การทดสอบสารต้านจุลชีพพบว่าการเพิ่มขึ้นของสารสกัดฟีนอลเพิ่มความเข้มของเส้นผ่านศูนย์กลางรอบแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดีที่สุดกับ *Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus, Bacillus cereus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella enterica, Salmonella typhi* และ *Enterobacter* sp.

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

เพาะกล้ายี่หร่าที่อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว จำนวน 450 ต้น แบ่งการทดลองเป็นดังนี้ ไม่มีการปุ๋ย ใส่ปุ๋ยหมัก และใส่ปุ๋ยคอก ซึ่งแต่ละการทดลองทำการเพาะยี่หร่ากลุ่มละ 150 ต้น และใส่ปุ๋ยจำนวน 1 ครั้งต่อสัปดาห์ เมื่อครบ 3 เดือน ในการเพาะกล้ายี่หร่าใส่ปุ๋ยจำนวน 1 ครั้งต่อ 2 สัปดาห์ เก็บใบยี่หร่าเมื่ออายุใบครบ 3 เดือน ล้างน้ำประปาให้สะอาดและผึ่งให้แห้ง เก็บไว้ให้พ้นจากแสงเพื่อใช้ในการดำเนินวิจัยต่อไป จากนั้นนำดินและปุ๋ยที่ใช้ในการปลูกยี่หร่าแต่ละการทดลอง ไปตรวจเพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีที่กรมพัฒนาที่ดิน เกษตรบางเขน

3.2 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

Bacillus subtilis ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ

3.3.1 เอทานอล 95%

3.3.2 น้ำกลั่น

3.3.3 โซเดียมไนไตรต์ ($NaNO_2$)

3.3.4 Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

3.3.5 absolute ethanol

3.3.6 2,2-dipheny-1-picryhydrazyl (DPPH)

3.3.7 Folin-Ciocalteu reagent

3.3.8 โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$)

3.3.9 อะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$)

3.3.10 โซเดียมออกไซด์ (NaOH)

3.3.11 กรดแกลลิค

3.4 อุปกรณ์

3.4.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ

3.4.1.1 เครื่องระเหยสุญญากาศ

3.4.1.2 เครื่องอบลมร้อน

3.4.1.3 เครื่องปั่น

3.4.1.4 กระบอกตวง

3.4.1.5 ขวดโหลพลาสติกสำหรับหมัก

3.4.1.6 ผ้าขาวบาง

3.4.1.7 ถุงพลาสติกสีดำกันแสง

3.4.1.8 ขวดแก้วสีชาสำหรับเก็บตัวอย่าง

3.4.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.4.2.1 เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท

3.4.2.2 หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร

3.4.2.3 หลอดทดลองแก้ว

3.4.2.4 ไมโครปิเปต

3.4.2.5 ปิเปตแก้ว

3.4.2.6 ไมโครเวลเพลท

3.4.2.7 แท่งคนสาร

3.4.2.8 บีกเกอร์แก้ว

3.4.2.9 ขวดปรับปริมาตร

3.4.2.10 เครื่องเขย่า

3.4.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

3.4.3.1 ตู้ปลอดเชื้อ

3.4.3.2 หม้อนึ่งอัดไอ

3.4.3.3 ตู้บ่มเชื้อที่ 37°C

3.4.3.4 จานเลี้ยงเชื้อ

3.4.3.5 ไม้พันสำลีขนาดใหญ่

3.4.3.6 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.4.3.7 จุกคอร์กขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิลิตร

3.4.3.8 Syringe filter member

3.4.8.9 ไมโครเวลเพลท

3.4.8.10 ไมโครปิเปต

3.4.8.11 แท่งแก้วรูปตัวแอล

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การสกัดสารสกัดหยาบ

3.5.1.1 การสกัดสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล

นำใบยี่หร่าที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และนำมาชั่งจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ นำไปบดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำตัวอย่างผงยี่หร่าที่ผ่านการบดปริมาณ 250 กรัม ห่อด้วยผ้าขาวบางเป็นลูกประคบลูกละ 50 กรัม ใส่ลงในขวดโหลพลาสติกสำหรับหมัก ใช้เอทานอล 95% ในการทำละลาย โดยอัตราส่วนผงยี่หร่าต่อเอทานอล คือ 1:8 ใช้ยี่หร่ากลุ่มการทดลอง 250 กรัมต่อเอทานอล 2,000 มิลลิลิตร เทใส่ขวดเก็บไว้ในที่มืด เขย่าวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนดเทสารละลายออกใส่ขวดและเติมเอทานอล 95%ใส่เข้าไปใหม่ปริมาณ 2,000 มิลลิลิตร ทำซ้ำเป็นจำนวน 3 ซ้ำ นำสารละลายที่เทออกมาระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) โดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จำนวนรอบ 120 รอบต่อนาที จะได้สารสกัดหยาบมีลักษณะหนืด สีดำ ใส่ขวดสีชาและนำไปเข้าในตู้ดูดความชื้น (Dessicator) เพื่อระเหยตัวทำละลายออกให้หมด เมื่อสารสกัดหยาบมีลักษณะแข็งตัวคงที่แล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหา %yield และเก็บสารสกัดหยาบไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

$$\%yield = \frac{\text{weight of extract recovered}}{\text{weight of fresh dry plant}} \times 100$$

3.5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ

นำสารสกัดหยาบที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) (Hewlett Packard 247 HP6890/5973) ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ทำการวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ DB-5 ขนาด 30 m. x 250 μm. X 0.25 μm. อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งถึง 150 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งอุณหภูมิสุดท้ายเป็น 260 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาทีอุณหภูมิของสารที่เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 30-500 atomic mass unit

3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

3.5.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radicial scavenging

เตรียมสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรละลายใน Dimethyl Sulfoxide (DMSO) และเจือจางให้เหลือความเข้มข้น 2.5, 1.25, 0.63 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ absolute ethanol ในการเจือจาง จากนั้นปิเปตสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 20 ไมโครลิตร และสารละลาย 2,2-dipheny-1-picryhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ลงใน 96 ไมโครเวลเพลท นำไปวัดค่าดูดกลืน

แสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในการทดลองใช้ absolute ethanol เป็น Blank และ แอสอร์บิคเป็นสารละลายมาตรฐาน คำนวณหาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ

$$\%\text{inhibition} = \frac{\text{Abs. control - Abs. sample}}{\text{Abs. control}} \times 100$$

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า inhibition concentration (IC_{50}) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% โดยใช้โปรแกรม Graphpad Prism

3.5.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent เตรียมสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายใน Dimethyl Sulfoxide (DMSO) เจือจางความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง 60 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 300 ไมโครลิตรและเติม 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ปริมาตร 240 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน ปิเปตสารละลายที่ได้ลงใน 96 ไมโครเวลเพลท บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ที่เครื่อง Microplate reader โดยใช้กรดแกลลิคเป็นกราฟมาตรฐาน

3.5.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี เตรียมสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรละลายใน DMSO ปิเปตสารละลายปริมาตร 500 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตรและโซเดียมไนไตรต์ ($NaNO_2$) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติม 10% อะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติม 1 M NaOH ปริมาตร 1 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ที่เครื่อง Microplate reader โดยใช้เควอซิตินเป็นกราฟมาตรฐาน

3.5.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion

3.5.4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

เตรียมสารสกัดหยาบจากแต่ละตัวการทำละลายให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100,200 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วย Syrine filter membrane ขนาด 0.22 ไมครอน

3.5.4.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

จุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไปที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis*

ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118

3.5.4.3 การทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์โดยการนำเชื้อจุลินทรีย์มาเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth (NB) สำหรับแบคทีเรีย และ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) สำหรับยีสต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 18 -24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่ได้มา streak ลงในเพลท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 -24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายเชื้อใน 0.85% Normal saline solution โดยปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นจุ่มไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้วลงในเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรับความเข้มข้นแล้ว นำสำลีมาทำการ swab ลงบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) ที่เตรียมไว้สำหรับแบคทีเรีย หลังจากนั้นเจาะหลุมโดยใช้จุกคอกเบอร์ 4 ลงบนอาหารแข็งจานละ 5 หลุม หยดสารสกัดที่ต้องการทดสอบลงในหลุม หลุมละ 40 ไมโครลิตร โดยใช้ DMSO เป็น negative control และใช้ยาปฏิชีวนะ Sreptomycin sulfate เป็น positive control สำหรับแบคทีเรีย จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 -24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณโซนใสที่เกิดขึ้นรอบหลุม (inhibition zone) ด้วยวอเนียร์คาลิปเปอร์ หน่วยเป็นมิลลิลิตร

3.5.5 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์

การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ทำได้โดยนำสารสกัดหยาบยี่หร่ามาทำการเจือจางด้วยอาหารเหลวแบบ two-fold dilution ให้ได้ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในไมโครเวลเพลทหลุมละ 100 ไมโครลิตร และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ 95 ไมโครลิตร แล้วเติมเชื้อที่ใช้ทดสอบหลุมละ 5 ไมโครลิตร ทำการเขย่าที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 วินาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ซึ่งค่า MIC ได้จากการสังเกตความใสของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.6 การหาความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้

การหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) ทำได้โดยนำสารที่ได้จากหลุมที่เกิดการยับยั้งในวิธี MIC ไปทำการ Spread plate อาหารแข็ง Nutrient Agar สำหรับแบคทีเรีย แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ค่า MBC คือค่าความเข้มข้นที่ทำให้จุลินทรีย์ไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่ม (completely randomized design ; CRD) และวิเคราะห์ผลการศึกษาโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี Duncan's Multiple-Range Test. (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของดินและปุ๋ยแต่ละชนิด

จากการนำดินและปุ๋ยไปวิเคราะห์ที่กรมพัฒนาที่ดิน พบว่าปุ๋ยคอก, ปุ๋ยหมัก และดิน มีอินทรียวัตถุร้อยละ 61.97, 12.53 และ 0.25 ตามลำดับ มีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 4.67, 0.78 และ 0.10 เดซิซีเมนต์/เมตร (ds/m) ตามลำดับ มีค่า pH เท่ากับ 8.40, 6.84 และ 6.8 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปุ๋ยคอกมีปริมาณร้อยละอินทรียวัตถุมากกว่าปุ๋ยหมักและดิน

ดินมีปริมาณฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่มีประโยชน์ต่อพืช เท่ากับ 2.93 และ 61.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปุ๋ยหมัก และปุ๋ยคอกมีน้ำหนักไนโตรเจนร้อยละ 0.62 และ 0.23 ตามลำดับ มีน้ำหนักฟอสฟอรัสร้อยละ 1.91 และ 0.42 ตามลำดับ มีน้ำหนักโพแทสเซียมร้อยละ 0.62 และ 0.23 ตามลำดับ ค่ามาตรฐานของปริมาณโพแทสเซียม และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์แก่พืชในดินอยู่ในช่วงร้อยละ 60-90 และ 10-25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์แก่พืชในดินอยู่ในค่ามาตรฐาน อย่างไรก็ตามฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์แก่พืชในดินมีค่าที่น้อยกว่าค่ามาตรฐาน (รัจนา, 2537)

จากผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wei *et al*. (2016) ได้ทำการศึกษาผลของการใส่ปุ๋ยและปุ๋ยอินทรีย์ต่อผลผลิตในดิน พบว่าผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ยอินทรีย์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของราก ทำให้รากดูดแร่ธาตุคาร์บอนได้มากขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Fallah *et al. (*2018) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และเคมีต่อองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยของ dragonhead (*Dracocephalum moldavica*) พบว่าปุ๋ยอินทรีย์ช่วยการเพิ่มขึ้นของ secondary metabolite คือ สารได้ที่จากกระบวนการสังเคราะห์แสงนำมาเข้ากระบวนการชีวสังเคราะห์เพื่อสร้างสารชนิดต่างๆ เช่น สารพวกอัลคาลอยด์ ฟีนอลิก และเทอร์พีนอยด์ ทำให้ปุ๋ยอินทรีย์ส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้มากขึ้น

4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas Chromatograhy-Mass spectrometry (GC-MS)

จากผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง ได้แก่ สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย, ดินใส่ปุ๋ยคอก และดินใส่ปุ๋ยหมัก พบสารชนิดเดียวกันทั้ง 10 ชนิดในสารสกัดหยาบยี่หร่า ได้แก่ Phenol (9.345 %) , Alpha (1.162 %) , Bicyclo [3.1.1] hept-2- ene,2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl (6.497 %) , Caryophyllene oxide (1.853 %) , Hexadecanoic acid (4.395 %) , Phytol (12.069 %), Ethyl Linoleolate (10.934 %) ,

Phytol acetate (2.549 %) , 9-Octadecenamide (38.373 %) และ Octadecenamide (11.515 %) ตามลำดับ ซึ่งปริมาณสารที่พบสูงที่สุด คือสาร 9-Octadecenamide ที่พบในสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย สารที่พบในสารสกัดหยาบยี่หร่าชนิดเดียวกัน แบ่งตามกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ดังนี้

1. กลุ่มสารประกอบฟินอลิก พบ 2 ชนิด ได้แก่ Phenol และ Phytol งานวิจัยของ Costa *et al.* (2016) รายงานว่า Phytol เป็นสาร diterpenoid ที่มีแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและสามารถต้านเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ และงานวิจัยของ รองเดช และ จุลจิตร์ (2559) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสะระแหน โดยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าส่วนประกอบทางเคมีของพืชวงศ์กระเพราะ (Lamiaceae) ได้แก่ Eugenol, Phenol, Carvacrol, Menthol และ Limonene มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดี

2. กลุ่มสารประกอบเทอร์พินอยด์ พบ 1 ชนิด ได้แก่ Caryophyllene oxide งานวิจัยของ Runyoro *et al.*, (2010) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยสกุลกะเพราะทั้ง 4 สายพันธุ์ที่ พบสารสำคัญ คือ Caryophyllene oxide ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของ Caryophyllene oxide ในการต้านเชื้อราในเล็บ รายงานว่า Caryophyllene oxide เป็นสารกันบูดในอาหาร, ยา และเครื่องสำอาง ฤทธิ์ของ Caryophyllene oxide เทียบเท่ากับ ciclopiroxolamine และ sulconazole มักใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อราทำให้ Caryophyllene oxide มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา

3. กลุ่มกรดปาล์มมิติก 1 ชนิด ได้แก่ Hexadecanoic acid งานวิจัยของ Raman *et al.* (2012) ได้ศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย GC-MS และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและอนุมูลอิสระของต้นสาบเสือ รายงานว่า Hexadecanoic acid มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรีย

3. กลุ่มเอไมด์ พบ 1 ชนิด ได้แก่ 9-Octadecenamide และ Octadecenamide งานวิจัยของ นิขจิตร (2555) ได้ทำการศึกษากิจกรรมต้านจุลินทรีย์ของสารโมเลกุลเล็กที่ได้จากกรดแลคติค พบสาร Octadecenamide ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

4. กลุ่มเอสเตอร์ พบ 1 ชนิด ได้แก่ Ethyl Linoleolate งานวิจัยของ Sanseera *et al.* (2011) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยจาก *Cleidion javanicum* Bl. พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีสาร Ethyl Linoleolate เป็นองค์ประกอบ ทำให้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa*

ตารางที่ 4.1 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

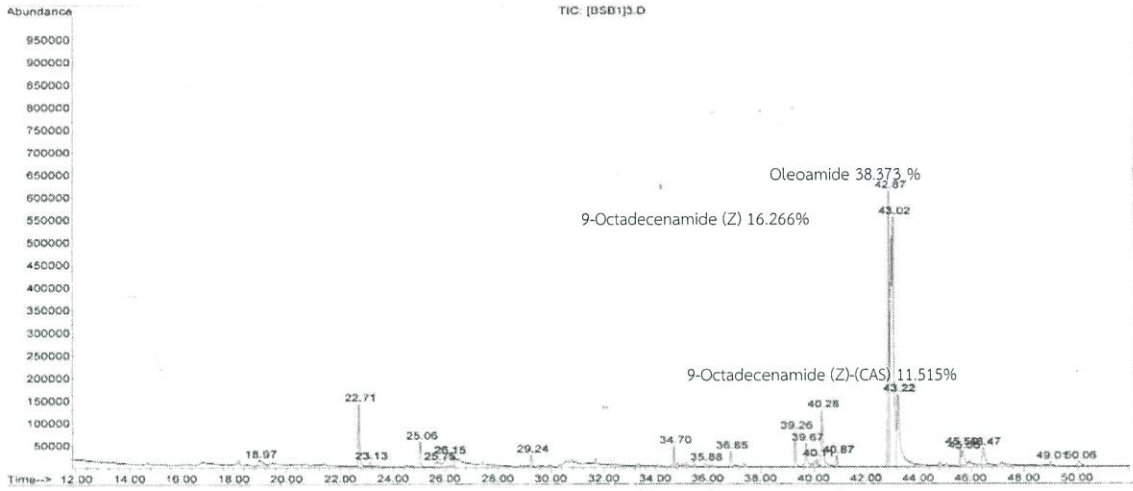
ลำดับที่	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ (%)		
		สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก
1	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)	1.538	1.904	-
2	Phenol	4.2434	6.394	9.345
3	Alpha-Copaene	0.285	0.785	1.162
4	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl	1.629	4.159	6.497
5	2-Hydroxy-3-methylbenzaldehyde	1.277	-	-
6	Cytidine (CAS)	4.110	7.663	-
7	Caryophyllene oxide	0.756	1.541	1.853
8	Neophytadiene	1.196	5.007	-
9	tetrahydroionone	-	-	3.749
10	Ethanol,2-(diethylamino)-(CAS)	0.427	-	-
11	Hexadecanoic acid	1.280	4.395	3.846
12	Ethyl ester	-	0.541	-
13	Phytol	1.973	12.069	8.091
14	Ethyl Linoleolate	2.511	10.934	7.465
15	Z-4-Vinylcyclooctene	0.515	2.220	-
16	Bicyclo(4.3.0) nonane, 2-Methylene	-	3.065	-

ตารางที่ 4.1 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง (ต่อ)

ลำดับที่	องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ (%)		
		สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก
17	Hexadecanamide	4.946	-	4.008
18	Phytol acetate	0.577	2.410	2.549
20	9-Octadecenamide,(Z)-(CAS)	38.373	19.714	29.939
21	Octadecenamide	11.515	6.756	8.406
22	4-Beta-amino-2-alpha-amino-2-alpha-3alpha-5-beta-trihydroxy-1-beta-cyclopentanemethanol hydrochloride	1.179	-	-
23	5-Dihydro-2-amino-1-Methyl Sulfyl Galactose	1.853	-	-
26	6-10-14-Hexadecatrien-1-ol-3-7-11-15-tetramethyl	0.274	-	1.076
27	I-stigmasterol	0.899	-	-

4.2.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย

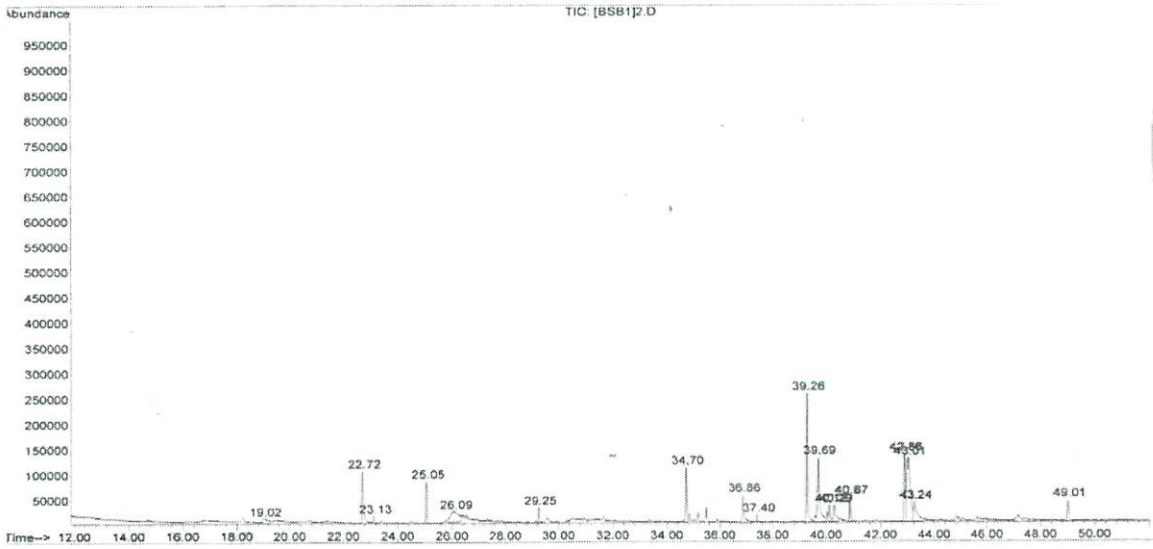
จากผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีที่พบมาก คือ Oleoamide 38.373 %, 9-Octadecenamide (Z) 16.266% และ 9-Octadecenamide (Z)-(CAS) 11.515% ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 โครมาโตรแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย

4.2.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก

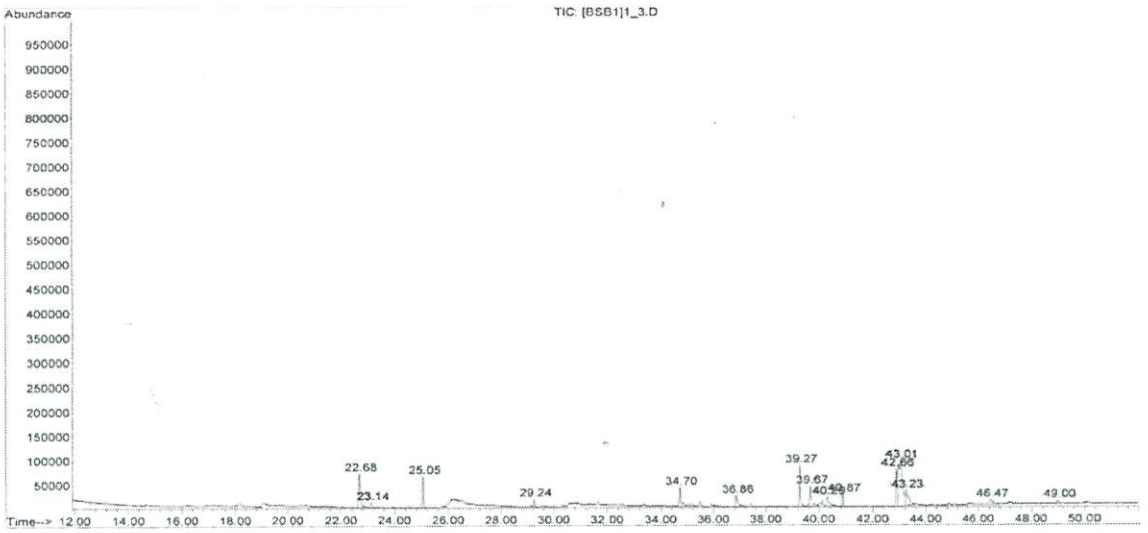
จากผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก พบว่าองค์ประกอบทางเคมีที่พบมาก คือ Phytol 12.069%, 9-Octadecenamide (Z)-(CAS) 19.741%, Ethyl Linoleolate 10.934% และ Phenol 6.394% ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 โครมาโตรแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ใส่ปุ๋ยคอก

4.2.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก

จากผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ใส่ปุ๋ยหมัก พบว่าองค์ประกอบทางเคมีที่พบมาก คือ 9-Octadecenamide (Z)-(CAS). 29.939%, Phenol 9.345% และ Phytol 8.091% ดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 โครมาโตรแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก

4.3 ปริมาณผลได้ของสารสกัดหยาบยี่หร่า

จากผลการปลูกยี่หร่าในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย ดินใส่ปุ๋ยคอก และดินใส่ปุ๋ยหมัก นำมาทำให้แห้งบดให้ละเอียด และนำไปสกัดด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ ใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก ดินใส่ปุ๋ยคอก และดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย เท่ากับ 10.43, 10.20 และ 9.87 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมักมี % Yield มากที่สุด เนื่องจากสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมักมีปริมาณไนโตรเจนและค่า pH ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืช สอดคล้องกับงานวิจัยของ อรประภา และภาณุมาศ (2558) ได้ทำการศึกษาการใช้ปุ๋ยอินทรีย์คุณภาพสูงต่อการให้ผลผลิตของผักกาดหอม โดยทำการปลูกผักกาดหอมใส่ปุ๋ยอินทรีย์มูลไก่ และใส่ปุ๋ยคอกผสมกับปุ๋ยเคมี พบว่าปริมาณผลผลิตของผักกาดหอมแปรผันตรงกับปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากไนโตรเจนช่วยในเรื่องการเจริญเติบโตของจำนวนใบและความสูงของลำต้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ชนากานต์ และคณะ (2558) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารอินทรีย์และค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนในพื้นที่เลี้ยงหอยแครง พบว่าค่า pH ส่งผลต่อต่อการละลายของธาตุอาหารในน้ำ ถ้าค่า pH ต่ำหรือสูง จะทำให้พืชดูดธาตุ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็ก สังกะสี ทองแดง แมงกานีส ได้น้อยลง ซึ่งค่า pH ที่เหมาะสมของพืชควรอยู่ใน pH 5.5-6

ตารางที่ 4.2 ผลของการสกัดสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

ชนิดสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (กรัม)	(%) Yield
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	300	29.6	9.87%
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	290	29.58	10.20%
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก	300	31.29	10.43%

4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)

จากผลการทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธี DPPH ที่ความเข้มข้น 2.5, 1.25, 0.63 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดค่าการดูดแสงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader และคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด คือ สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก รองลงมา คือ สารสกัดหยาบจากยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย และดินใส่ปุ๋ยหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

ความเข้มข้น	ค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของชนิดสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง		
	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ใส่ปุ๋ยหมัก
2.5	84.413 ± 3.11^{a}	85.997 ± 0.22^{a}	83.163 ± 0.36^{a}
1.25	65.457 ± 0.40^{b}	73.790 ± 0.40^{b}	62.997 ± 0.88^{b}
0.63	51.830 ± 0.19^{c}	58.830 ± 0.19^{c}	36.747 ± 0.55^{c}
0.31	42.830 ± 0.59^{d}	44.250 ± 0.66^{d}	20.627 ± 0.55^{d}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n = 3)

นำค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองมาคำนวณหาค่า IC_{50} ในโปรแกรม Graphpad Prism 7 ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่ายับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 50% (IC50) ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

ชนิดของสารสกัดหยาบ	ค่าIC_{50}(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	0.550
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	0.425
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก	0.918

จากผลการทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย ดินใส่ปุ๋ยคอก และดินใส่ปุ๋ยหมัก เท่ากับ 0.918, 0.550 และ 0.425 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$) จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอกมีค่า IC_{50} น้อยที่สุด เนื่องจากสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอกมีปริมาณ สาร Phytol มากที่สุด ทำให้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Santos *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาเรื่องกิจกรรมลดอาการปวด และการต้านอนุมูลอิสระของ Phytol ในหลอดทดลอง พบว่า Phytol เป็นแอลกอฮอล์ที่ไม่อิ่มตัวแบบโซ่กิ่งและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ Phytol ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระและสูญเสียอะตอมไฮโดรเจน ทำให้ Phytol สามารถลดการผลิตอนุมูลอิสระได้ ทำให้ค่า IC_{50} แปรผันตรงกับปริมาณ Phytol ในสารสกัดหยาบยี่หร่า

4.5 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic)

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรละลายใน DMSO วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบกับกราฟมาตรฐานแกลลิค พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก ดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย และดินใส่ปุ๋ยคอก มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 75.72 ± 0.73 , 53.37 ± 0.35 และ 35.74 ± 0.53 ไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมักมีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุด เนื่องจากสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมักมีปริมาณสาร Phenol มากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yakoub *et al.* (2018) ได้ทำการศึกษาเรื่องสารประกอบฟลาโวนอยด์, ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและแบททีเรียของปอกระเจาฝักยาว พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกแปรผันตรงกับปริมาณสาร Phenol ที่เพิ่มมากขึ้น

อย่างไรก็ตามจากผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าไม่สอดคล้องกับผลการหาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากพืชบางชนิดมีสารประกอบฟีนอลต่ำ แต่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง หรือมีสารประกอบฟีนอลสูง แต่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Souri *et al.* 2008

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดยี่หราบแต่ละกลุ่มการทดลอง

สารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด)
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินไม่ใส่ปุ๋ย	53.37 ± 0.35^{c}
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	35.74 ± 0.53^{b}
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก	75.72 ± 0.73^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n = 3)

4.6 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid content)

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetric ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายใน DMSO วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบกับกราฟมาตรฐานเควอซิติน พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก ดินไม่ใส่ปุ๋ย และดินใส่ปุ๋ยคอก มีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 114.44 ± 0.73, 74.70 ± 0.38 และ 43.90 ± 0.53 ไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมักมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด เนื่องจากสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่หมักมีปริมาณสาร Phenol มากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของนวลอนงค์ และคณะ (2558) ได้ทำการศึกษาเรื่องปริมาณฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวไทย พบว่าสาร Phenol เป็นองค์ประกอบฟลาโวนอยด์ ทำหน้าที่เป็นปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายโดยให้ไฮโดรเจนให้แก่อนุมูลอิสระ Phenol จึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ทำให้ปริมาณฟลาโวนอยด์แปรผันตรงกับปริมาณสาร Phenol ในสารสกัดหยาบยี่หร่าที่เพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

สารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ไมโครกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด)
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	74.70 ± 0.38^{c}
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	43.90 ± 0.53^{b}
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก	114.44 ± 0.73^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n = 3)

4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion

จากผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธี Agar well diffusion ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั่วไป 4 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ด้วยวิธี Agar well diffusion โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่ามีบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 22.34±2.16, 16.38±2.08 และ 15.53±1.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 มีบริเวณยับยั้งมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอกมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ได้มากที่สุด ตามลำดับ เนื่องจากสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอกมีปริมาณสาร Phytol และ Neophytadiene มากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lee *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและการกระตุ้นให้เกิดความเครียดภายในเซลล์แบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ของ Phytol พบว่า Phytol ทำให้เกิดจำนวนอนุมูลอิสระออกซิเจน (ROS) ที่เพิ่มขึ้น เมื่อ ROS เพิ่มขึ้นทำให้เสียสมดุลภายในเซลล์ ทำให้ DNA ถูกทำลายลงอย่างรุนแรง จึงทำให้ Phytol มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยกระตุ้นความเครียดจากออกซิเจนใน *Pseudomonas aeruginosa* และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Soosairaj and Dons. (2016) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวภาพและโครงสร้างของสารสกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC-MS จาก *Justicia tranquebariensis* L. พบว่าสาร Neophytadiene ในต้นสาบเสือมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และต้านการอักเสบ และสารสกัดหยาบ

ยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีสาร I-stigmasterol ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิสาตรี และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์จากรักดำในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส พบว่า Stigmasterol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจาก Stigmasterol อยู่ในกลุ่มสเตียรอยด์จึงมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับแอมพิซิลิน

จากการผลทดลองจะเห็นได้ว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอกมากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัย Radha *et al.* (2016) ได้ศึกษาเรื่องการแยกและโครงสร้างของกรดปาร์มมิติกจาก *Canthium parviflorum* leaves ได้ทำการทดสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion พบว่า ชั้นนอกของของแบคทีเรียแกรมลบมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำสูง จึงทำให้การซึมผ่านเข้าไปในผนังเซลล์ทีได้ยาก แต่แบคทีเรียแกรมบวกมีเพียงแค่ peptidoglycan การซึมผ่านจึงเข้าไปได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ทำให้เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจึงมีบริเวณยับยั้งได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

ตารางที่ 4.7 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อทดสอบ สารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทอลอง	Positive control	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิเมตร)		
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)		
		100	200	300
Bacillus subtilis ATCC 6633				
ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	14.01	11.46±0.00^{a}	15.49±4.20^{a}	16.38±2.08^{a}
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก	±2.34	8.71±1.27^{ab}	11.18±0.82^{a}	12.38±2.08^{ab}
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก		7.92±0.98^{b}	8.72±0.13^{a}	8.97±1.46^{b}
Esherichia coli ATCC 25922	6.84			
ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย	±1.27	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก		ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก		ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง	ไม่ยับยั้ง
Pseudomonas aeruginosa ATCC27853	14.59 ±1.84			
ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย		13.79±0.52^{a}	15.19±1.46^{ab}	14.67±0.36^{a}
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก		14.99±0.94^{a}	20.93±1.61^{a}	15.53±1.35^{a}
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก		12.27±22.88^{a}	13.30±4.00^{b}	14.68±1.23^{a}

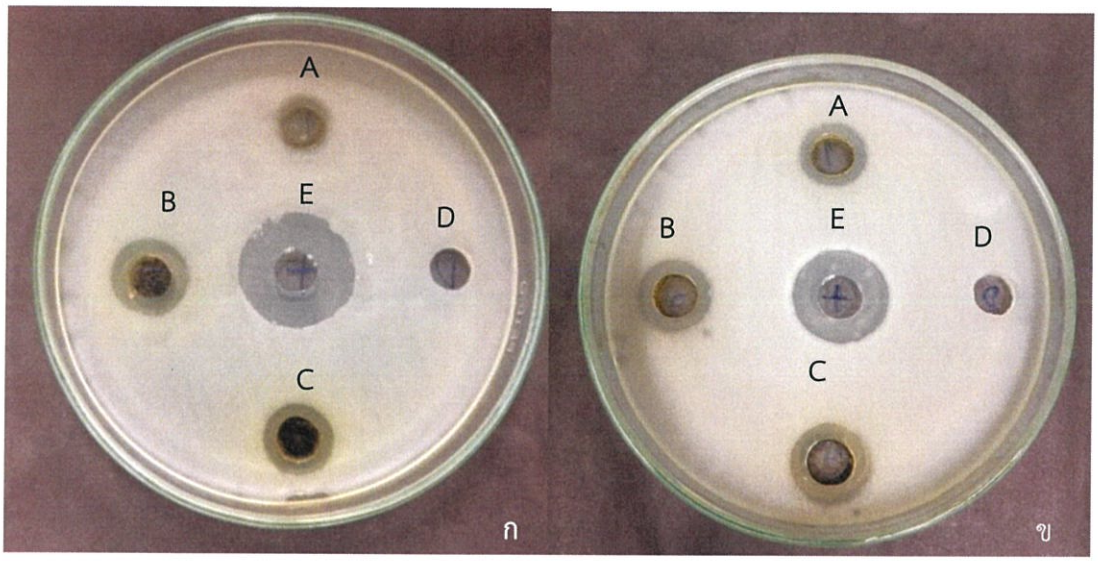
ตารางที่ 4.7 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (ต่อ)

เชื้อทดสอบ สารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทอลอง	Positive control	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิเมตร)		
		ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)		
		100	200	300
Staphylococcus aureus TISTR 118	14.62 ±0.66			
ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย		13.79±0.52[a]	15.19±1.46[a]	18.94±2.93[a]
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก		14.99±0.94[a]	20.93±1.61[ab]	22.34±2.16[b]
ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก		12.27±2.88[a]	13.30±3.46[b]	13.58±1.11[a]

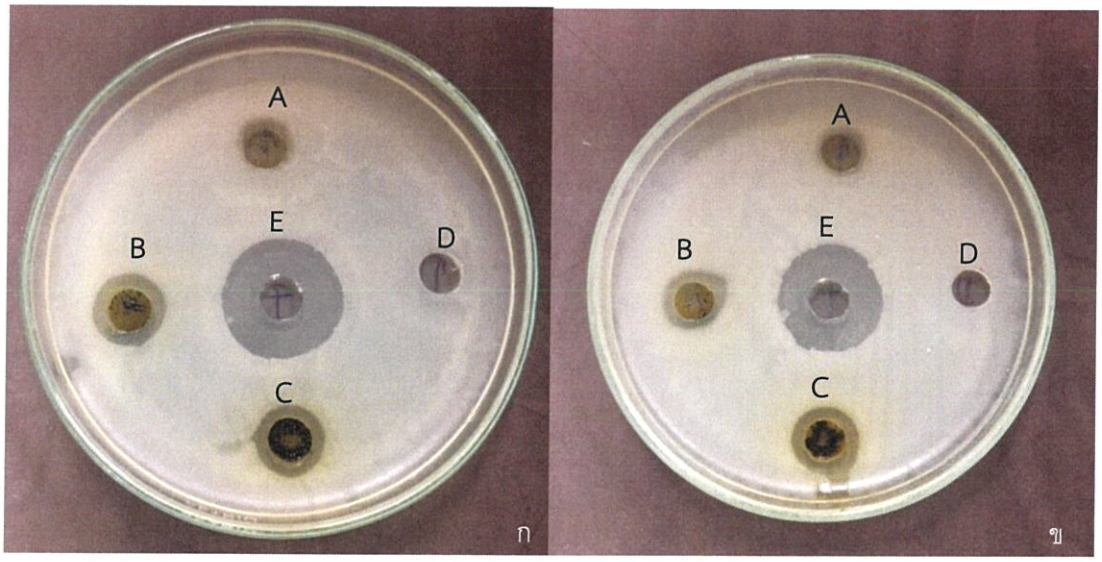
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n = 2)

4.7.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

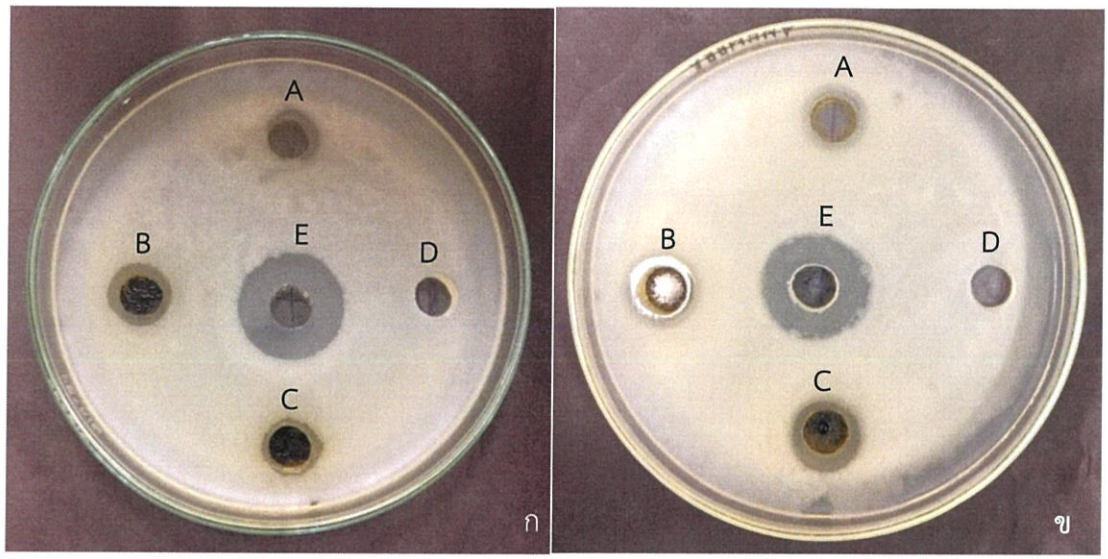
จากการนำสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย ดินใส่ปุ๋ยคอก และดินใส่ปุ๋ยหมัก มีบริเวณยับยั้ง 16.38±2.08, 12.38±2.08 และ 8.97±1.46 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.4-4.6 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีบริเวณยับยั้งดีที่สุด



รูปที่ 4.4 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Vancomysin (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



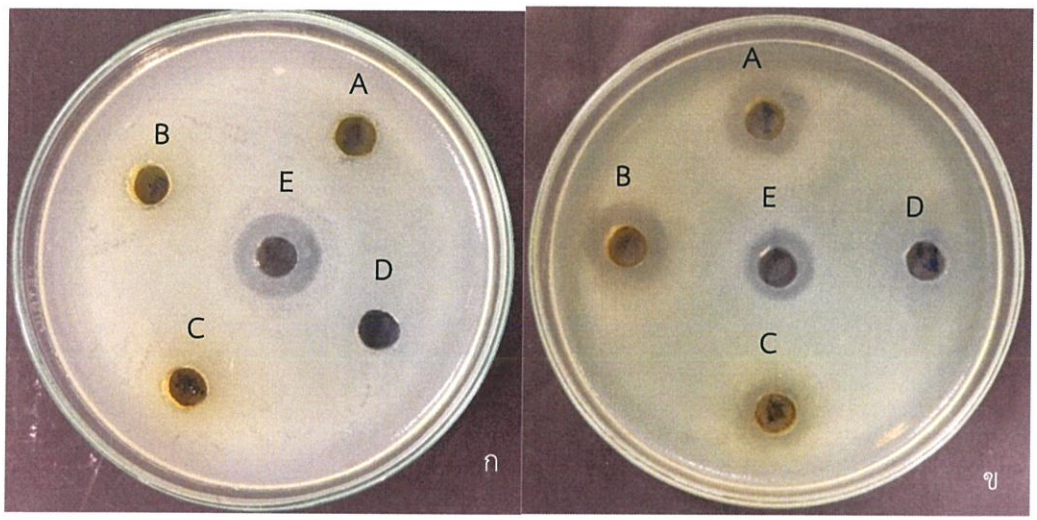
รูปที่ 4.5 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Vancomysin (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



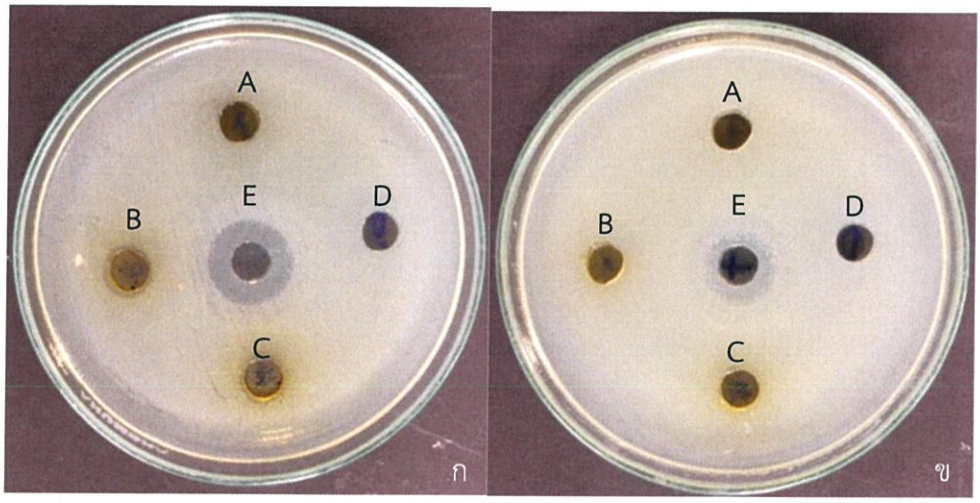
รูปที่ 4.6 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Vancomysin (E) , ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))

4.7.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

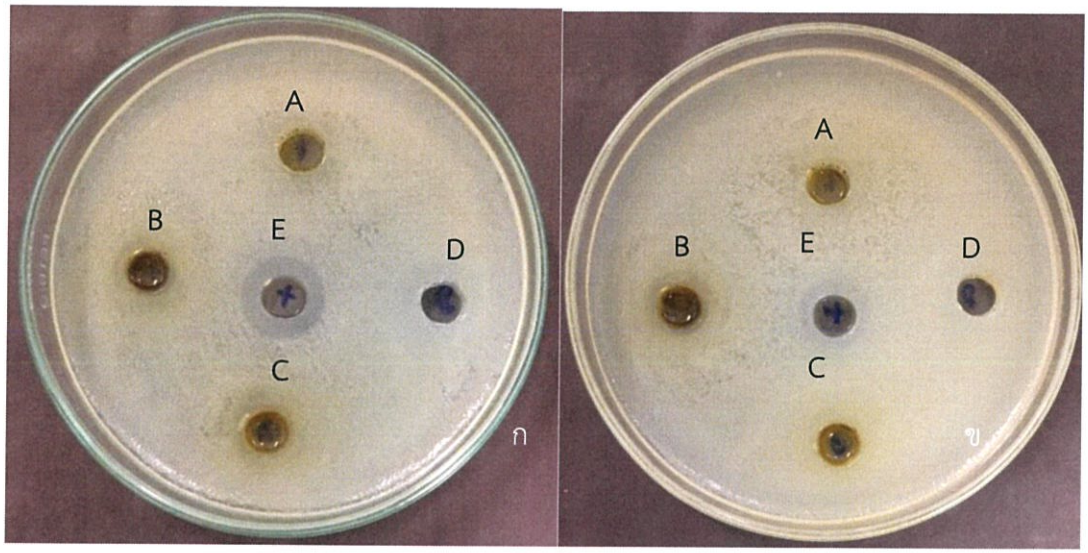
จากการนำสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีหรือมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Esherichia coli* ATCC 25922 ได้เล็กน้อย ทำให้เห็นบริเวณยับยั้งได้ไม่ชัดเจน ดังรูปที่ 4.7-4.9



รูปที่ 4.7 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Streptomycin sulfate (E) ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



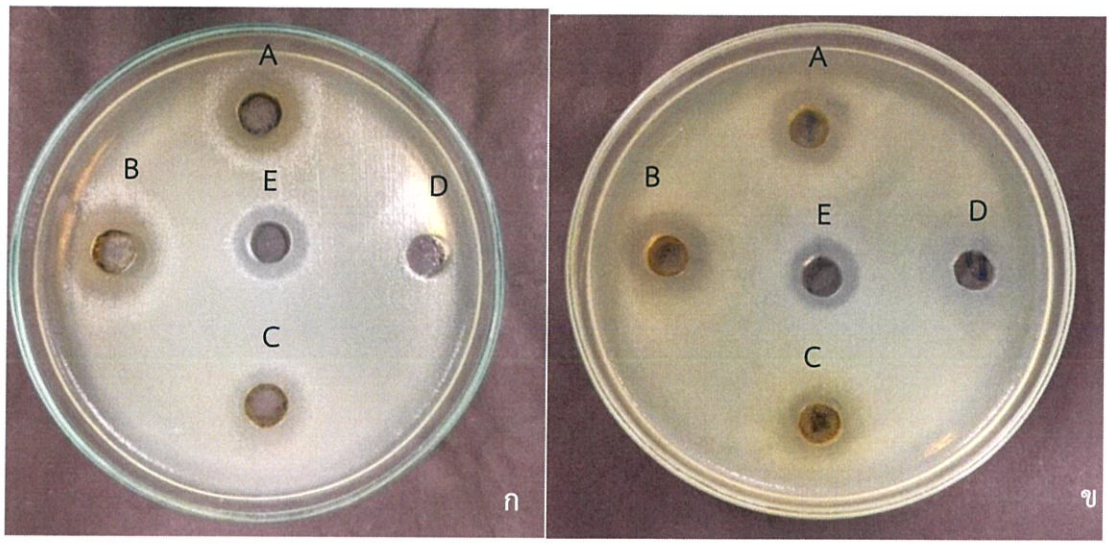
รูปที่ 4.8 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Streptomycin sulfate (E) , ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



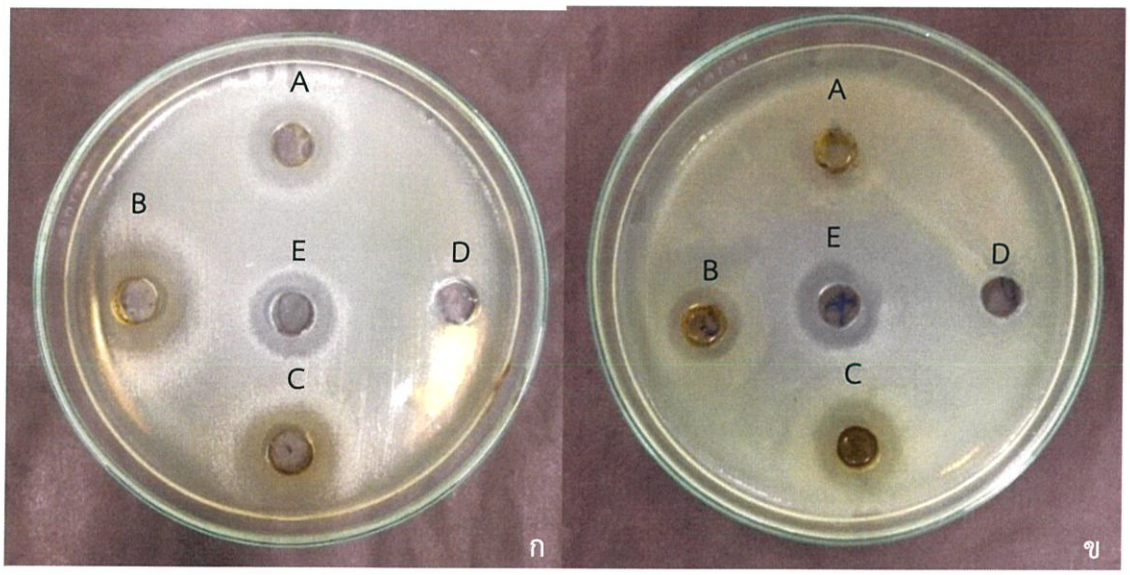
รูปที่ 4.9 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Esherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Streptomycin sulfate (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))

4.7.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

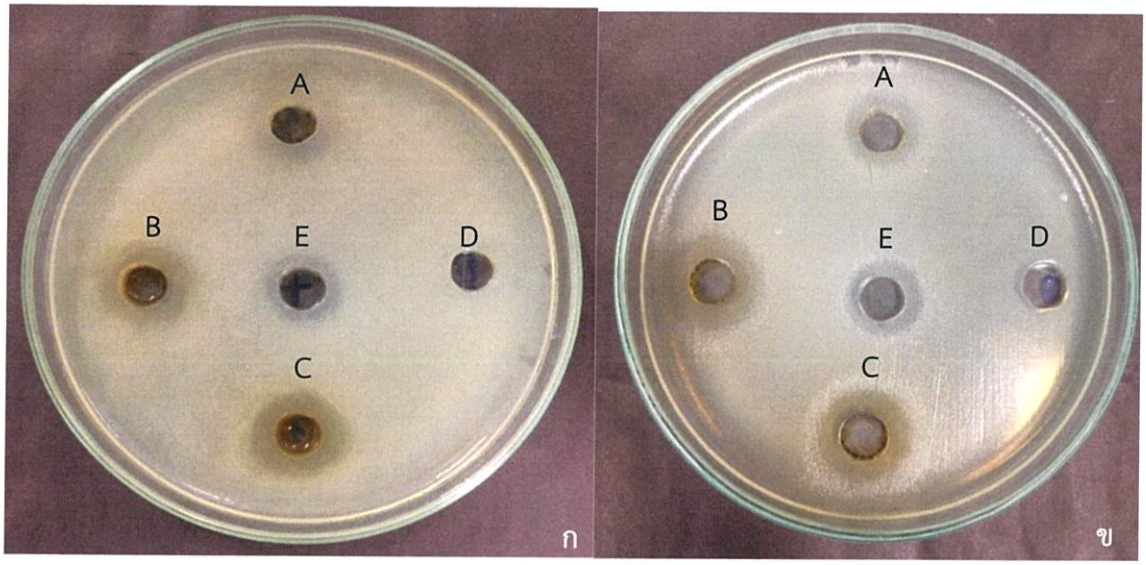
จากการนำสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa ATCC* 27853 พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก ดินใส่ปุ๋ยหมัก และในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณยับยั้ง 15.53±1.35, 14.68±1.23 และ 14.67±0.36 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.10-4.12 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอกมีบริเวณยับยั้งดีที่สุด



รูปที่ 4.10 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Streptomycin sulfate (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



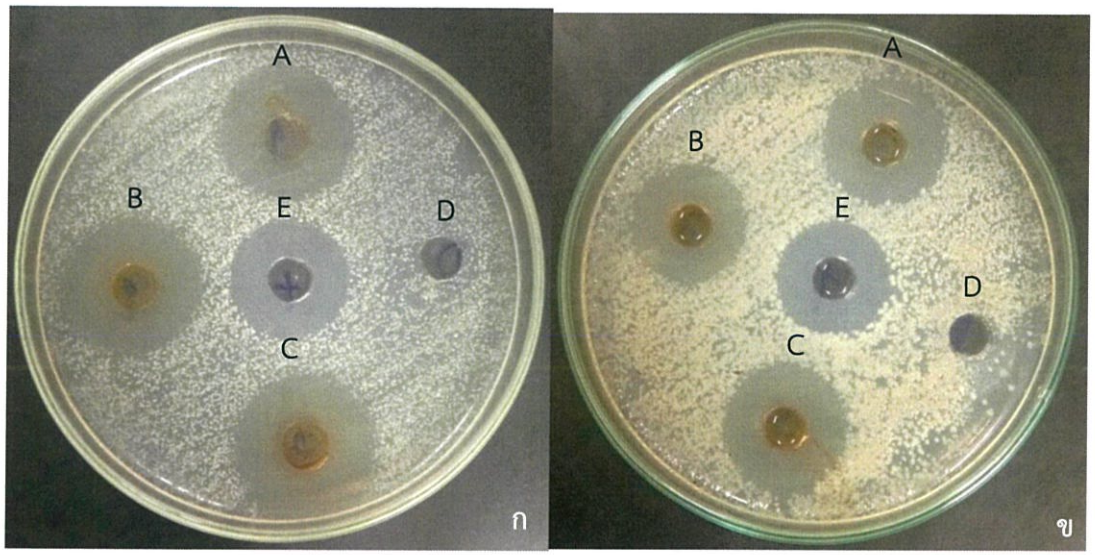
รูปที่ 4.11 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Streptomycin sulfate (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



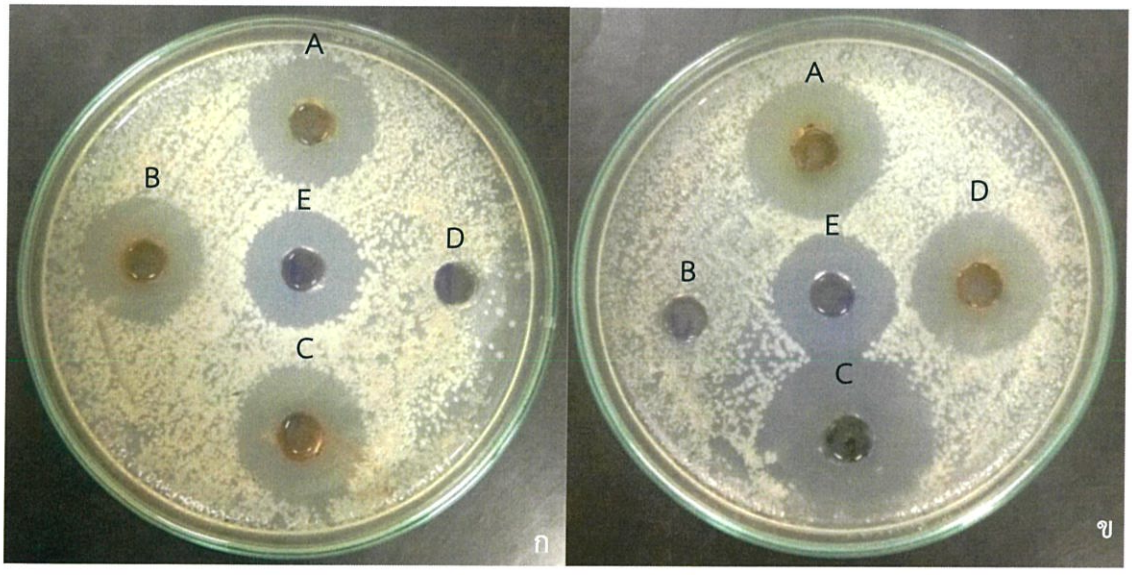
รูปที่ 4.12 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Streptomycin sulfate (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))

4.7.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง

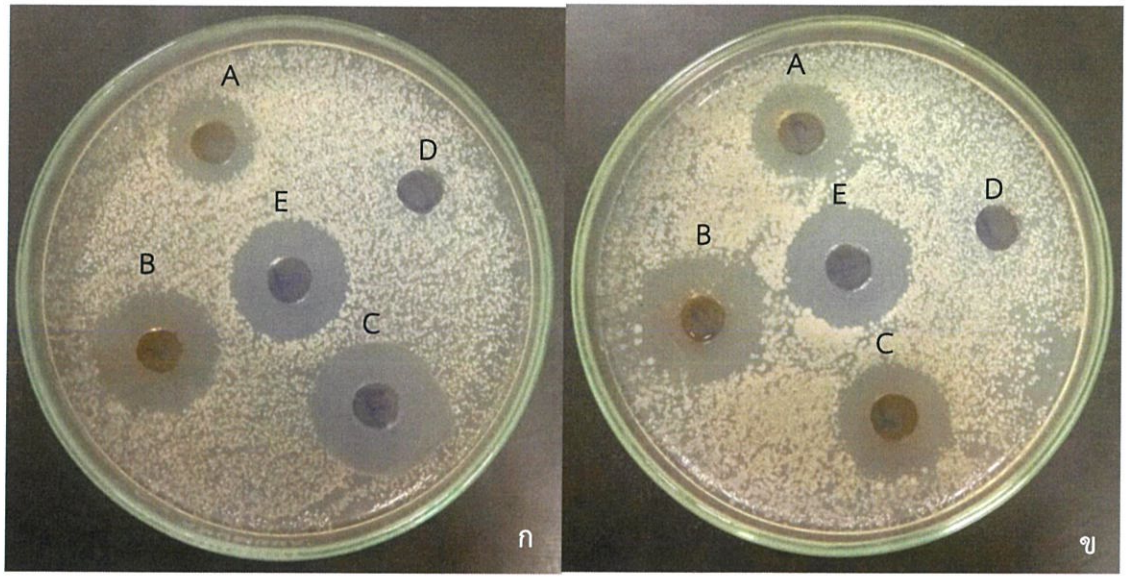
จากการนำสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก ดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย และดินใส่ปุ๋ยหมัก ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณยับยั้ง 22.34±2.16, 18.94±2.93 และ 13.58±1.11 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.13-4.15 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าปลูกในดินที่ใส่ปุ๋ยคอกมีบริเวณยับยั้งดีที่สุด



รูปที่ 4.13 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Vancomysin (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



รูปที่ 4.14 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Vancomysin (E), ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))



รูปที่ 4.15 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก (สารสกัดหยาบยี่หร่าความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) และความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) DMSO (D) Vancomysin (E) ซ้ำที่ 1 (ก) ซ้ำที่ 2 (ข))

จากผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) และการทดสอบค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99% (MBC) พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองต่อเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 มีค่ามากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.8 จะแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าไม่มีฤทธิในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Akrami *et al.* (2015) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียของ Zataria (*Zataria multiflora*) และยี่หร่า ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Vapor diffusion พบว่ายี่หร่าไม่ต้าน *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* และ *Esherichia coli* ทำให้ยี่หร่ามีประสิทธิภาพไม่เพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำที่สุด (MIC) และความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99% (MBC) ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรีย	สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย		สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก		สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก	
	(MIC)	(MBC)	(MIC)	(MBC)	(MIC)	(MBC)
Bacillus subtilis ATCC 6633	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Esherichia coli ATCC 25922	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Pseumonas aeruginosa ATCC 27853	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Staphylococcus aureus TISTR 118	>100	>100	>100	>100	>100	>100

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการนำดินและปุ๋ยไปวิเคราะห์ที่กรมพัฒนาที่ดิน พบว่าปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก และดิน มีอินทรียวัตถุร้อยละ 61.97, 12.53 และ 0.25 ตามลำดับ มีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 4.67, 0.78 และ 0.10 เดซิซีเมนต์/เมตร (ds/m) ตามลำดับ มีค่า pH เท่ากับ 8.40, 6.84 และ 6.8 ตามลำดับ ซึ่งดินมีปริมาณฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่มีประโยชน์ต่อพืช เท่ากับ 2.93 และ 61.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปุ๋ยหมักและปุ๋ยคอกมีน้ำหนักไนโตรเจนร้อยละ 0.62 และ 0.23 ตามลำดับ มีน้ำหนักฟอสฟอรัสร้อยละ 1.91 และ 0.42 ตามลำดับ มีน้ำหนักโพแทสเซียมร้อยละ 0.62 และ 0.23 ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง ได้แก่ สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย ดินใส่ปุ๋ยคอก และดินใส่ปุ๋ยหมัก พบสารชนิดเดียวกันทั้ง 10 ชนิดในสารสกัดหยาบยี่หร่า ได้แก่ Phenol (9.345 %) , Alpha (1.162 %) , Bicyclo [3.1.1] hept-2-ene,2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl (6.497 %) , Caryophyllene oxide (1.853 %) , Hexadecanoic acid (4.395 %) , Phytol (12.069 %), Ethyl Linoleolate (10.934 %) , Phytol acetate (2.549 %) , 9-Octadecenamide (38.373 %) และ Octadecenamide (11.515 %) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณสารที่พบสูงที่สุด คือ สาร 9-Octadecenamide ที่พบในสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย

จากผลการทดลองหาปริมาณผลผลิตที่ได้จากการนำยี่หร่าไปสกัด พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมักมีค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดที่ได้ (% yield) มากที่สุด เท่ากับ 10.43% รองลงมาคือ สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก และดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย โดยมี % yield เท่ากับ 10.20% และ 9.87% ตามลำดับ

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ที่ความเข้มข้น 2.5, 1.25, 0.63 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.918 รองลงมา คือ สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอก และดินใส่ปุ๋ยหมัก โดยมค่า IC_{50} เท่ากับ 0.550 และ 0.425 ตามลำดับ

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง ความเข้มข้นเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมัก มีปริมาณฟีนอลิคมากที่สุด มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 75.72±0.73 ไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด รองลงมา คือ สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย และดินใส่ปุ๋ยคอก โดยมีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 53.37±0.35 และ 35.74±0.53 ไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบแต่ละกลุ่มการทดลอง ความเข้มข้นเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยหมักมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด มีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 114.44±0.73 ไมโครกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด รองลงมา คือ สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย และดินใส่ปุ๋ยคอก โดยมีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 74.70±0.38 และ 43.90±0.53 ไมโครกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

จากผลการนำสารสกัดหยาบยี่แต่ละกลุ่มการทดลองมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่ามีบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 22.34±2.16, 16.38±2.08 และ 15.53±1.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบที่ปลูกในดินใส่ปุ๋ยคอกมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ได้มากที่สุด ตามลำดับ และสารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้มากที่สุด จะเห็นได้ว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 มีบริเวณยับยั้งเชื้อมาก

จากผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำที่สุดยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารสกัดหยาบยี่หร่าทุกกลุ่มการทดลองมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ >100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบยี่หร่าเพิ่มขึ้น เช่น การบรรเทาอาการแก้ปวด ท้องเสีย และลดระดับไขมันคอลเรสเตอรอล

5.2.3 ควรศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ เช่น แบคทีเรียก่อโรค แบคทีเรียก่อโรคในปลา เป็นต้น

5.2.3 ควรทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยยี่หร่า

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2540. การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการปรับปรุงบำรุงดิน. ค้นเมื่อ 14 พฤษภาคม 2561. แหล่งที่มา: http://www. agriqua.doae.go.th/soil.

กนกพร สว่างแจ้ง. 2552. การพัฒนากลไกการวิเคราะห์สิ่งแวดล้อมทางนิเวศเชิงยุทธศาสตร์. ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

กฤชนนท์ สิกขะโต, เกษศิรินทร์ สมเพ็ชร และขนิษฐา พุ่มสถิตย์. 2559. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. 2541. การวิเคราะห์ดินและพืชทางเคมี. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ. 2559. การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคนา. สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

จักรกฤษณ์ พูนภักดี. 2556. สถานะโพแทสเซียมในดินที่ดอนและที่ลุ่มที่ใช้ปลูกยางพาราในจังหวัดสงขลา. ภาควิชาการจัดการทรัพยากรดิน, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชนากานต์ สุขอุดม เมธี แก้วเนิน อิสริยา วุฒิสินธุ์ จินตนา สและน้อย Yoshikawa T., Okamoto Y., Watanabe K. and Ishikawa S. 2558. ปริมาณสารอินทรีย์และค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอน ในพื้นที่เลี้ยงหอยแครงบริเวณอ่าวบ้านดอน. จังหวัดสุราษฎร์ธานี. **แก่นเกษตร.** 43(2), 255-276.

ชนิสรา ปัญญายิ่ง, มิกิ กัณณะ และ สราวุฒิ สมนาม. 2560 การหาปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชใช้ประโยชน์ได้ในดิน โดยใช้ระบบไฮโดรไดนามิกซีเควนเชียลอินเจคชันแบบประหยัด. ภาควิชาเคมี ค ณ ะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

ชาลิสา ชาญเขตรธรรม, อานุภาพ สกิจขวา. 2557. ฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่น. สาขาชีวภาพ. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

ฐิติพร มะชิโกวา, ปิยะดา อลิฌาณ์ ตันตสวัสดิ์ และสุดชล วุ้นประเสริฐ. 2557. การพัฒนาการปลูกทานตะวัน. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ณัฏฐิกา ศิลาลาย. 2549. ฟลาโวนอยด์ในใบชา. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสยาม.

ทิพวรรณ สิทธิรังสรรค์. 2547. ปุ๋ยหมัก ดินหมัก และปุ๋ยชีวภาพ. **วารสารเพื่อการปรับปรุงดินโดยวิธีเกษตรธรรมชาติ**. 2, 74-80.

ธนภพ โสตรโยม, เกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์, นพพร สกุลยืนยงสุข, ดวงกมล ตั้งสถิตพร, ดวงรัตน์ แซ่ตั้ง และกิตติ ซ้องประเสริฐ. 2558. การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli*

และ *Salmonella* spp. ของสาสกัดจากหอมหัวใหญ่. คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์, , มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

นพวัฒน์ เพ็งคำศรี, จัตุพล กันทะมูล, ภัทราภรณ์ โตวัฒนกิจ, วชิรวิทย์ วงศ์ษารัฐ, วนิดา ใจหมั่น, นิภาพร เมืองจันทร์ และ สุภารัตน์ จันทร์เหลือง. 2554. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าลิง. **วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ**. 3, 195-201.

นวลอนงค์ เสมสังข์, ณกมล แก้วลังการ์ และวีรพงษ์ จันทะชัย. 2558. ปริมาณฟลาโวนอย์สารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

นิขจิตร คลองดี. 2555. กิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารโมเลกุลเล็กที่ผลิตโดยเชื้อแอสิตแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมัก. สาขาจุลชีวภาพ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นุรดีนา สาหนิ. 2552. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากกล้วยป่า. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

นันทวัน บุญยะประภัศร. 2544. การสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญจากสมุนไพร. **วารสารวิชาการเภสัชวินิจฉัยยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ**. 1, 129-164.

บังอร วงศ์รักษ์ และ ศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล.

ประสงค์ เทียนบุญ. 2553. บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปิยณัฐ โตอ่อน, วรรณรพ ขันธิรัตน์ และ จรุงรัตน์ พันธุ์สุวรรณ. 2557. การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้กระถางต้นไม้จากปุ๋ยคอก ขุยและใยมะพร้าวโดยใช้หลักการออกแบบการทดลอง. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 1, 140-147.

ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร, ศิวาพร ลงยันต์, ภัทริน ศรีดุลยกุลย์ และไพศาล สิทธิกรกุล. 2552. การโคลนยีนและการแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะต่อ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งวิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบจีโนมและการผลิตโพลิโคลนอลแอนติบอดี. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ภัสสร หาขุนทด และ ศศิวิมล พูลเกิด. 2557 อิทธิพลของไกลโฟเสทต่อการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารในดิน. ภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

มุกดา สุขสวัสดิ์. 2545. ปุ๋ยอินทรีย์. **วารสารวิชาการสำนักพิมพ์บ้านและสวน.** 1, 195-216.

ยงยุทธ โอสถสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชวลิต ฮงประยูร. 2551. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รองเดช ตั้งตระการพงษ์ และจุลจิตร์ ตั้งตระการพงษ์. 2559. ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสะระแหน่โดยตัวทำละลายเอทานอล. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 44(1) 79-87

รุ่งนภา ช่างเจรจา, พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง และสันติ ช่างเจรจา. 2557. ผลของแสงและอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของว่านแสงอาทิตย์. สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

เรณู คำหอม. 2559. การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของปีบ. สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

รัจนา ชินพิทักษ์. 2537. โปรแกรมประเมินผลวิเคราะห์ดินเพื่อใช้ปูนและปุ๋ยสำหรับพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย. สาขาวิชาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร. มหาวิยาลัยมหิดล.

วารีรัตน์ หนูหีต. 2557. การยั้บยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง. คณะการจัดการสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วิสาตรี คงเจริญสุนทร์, วารี เนื่องจำนงค์ และพนิดา อภิบาล. 2556. ฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์จากรักดา (*Diospyros curranii*) ในการยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.** 41(3) 731-743

วันเช็ง สิทธิกิจโยธิน และดวงฤดี เชิดวงศ์เจริญสุข 2554. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ศรัญญา มณีทอง. 2559. การสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิดด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช. มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.

ศิรประภา ลำภา. 2550 การทดสอบทางพฤกษเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพืช. สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศศิกัญญา ดอนดีไพร. 2554 การสกัดด้วยตัวทำละลาย. **วารสารวิชาการสำนักงานเขตพื้นที่การศึกษา**. 2, 74-85.

ศิราณี วงศ์กระจ่าง. 2557. ผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมีต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดในชุดดินบ้านทอน. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์.

ศิริพร กาทอง และ เฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2557 การหาปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปุ๋ยอินทรีย์น้ำ. สาขาวิชาเคมีสำหรับครู คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศิริพร หมาดหล้า และพจนพร ไกรดิษฐ์. 2559. สารอัลคาลอยด์จากพืชและกลไกการออกฤทธิ์ระดับโมเลกุลในการต้านมะเร็ง. ภาควิชาชีวเวชศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สายใจ แก้วอ่อน และอาอีเซาะส์ เบ็ญหาวัน. 2559. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดดาหลา (*Etlingera elatior* L.) ต่อแบคทีเรียก่อโรคในพืช. วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร, มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา.

สุพจน์ ชัยวิมล. 2544. ปุ๋ยหมัก. **วารสารวิชาการสำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร**. 2, 126-134.

สุรพงศ์ รัตนะและบรรลือ สังข์ทอง 2560. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอลจาก ดอกไม้หอมห้าชนิด. มหาวิทยาลัยมาสารคาม.

สุวรรณี แสนทวีสุข, ดวงใจ จงตามกลาง, ทัศน์วรรณ สมจันทร์และปิติพงษ์ โตบันลือภพ. 2555. ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. **วารสารวิชาการแก่นเกษตร**. 40(2): 480-483.

สังคม เตชะวงค์เสถียร. 2559 การเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช. สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สัญญา เล่ห์สิงห์. 2558. อิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของผลผลิตจิงจูฉ่าย. สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

อมรรัตน์ สีสุกอง กัลยาภรณ์ จันตรี และศรีสุดา หาญภาคภูมิ. 2559. การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด. **วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์.** 11(1), 69-82.

อรประภา อนุกูลประเสริฐ และภาณุมาศ ฤทธิไชย. 2558. ผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์คุณภาพสูงต่อการให้ผลผลิตและคุณภาพของผักกาดหอม. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** 4(1), 81-94.

เอนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2559. ผลของชนิดตัวทำละลายและความเข้มข้นของกรดซิตริกที่มีต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวหอมนิล. มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

Akrami F., Rodríguez-Lafuente A., Bentayeb K. , Pezo D., Ghalebi S.R. and Nerín C. 2015. Antioxidant and antimicrobial active paper based on Zataria (*Zataria multiflora*) and two cumin cultivars (*Cuminum cyminum*). **Food Science and Technology**. 60(2), 929-933.

Bagchi, K. and Puri, S., 1998. Free radicals and antioxidants in health and disease. **Institute of Home Economics Delhi University India.** 4, 350-360.

Bast A., Haenen G. R. M. M. and Doelman C. J. A, 1991. Oxidants and antioxidants. **State of the art Am Jonrnal Med**. 91, 2-13.

Bueraheng S. and Petchlert C. 2015. Antioxidant activity of ethanol extracts from Nigella sativa and *Cuminum cyminum* L. **National Science Research Conference**. 7, 1-6

Chen, Q.Q., Gan, Z.L., Zhao, J.H., Wang, Y., Zhang, S.M., Li, J.M. and Ni, Y.Y. 2014. In vitro comparison of antioxidant capacity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) oils and their main components. **Journal of Food Sciences and Technology**. 2, 632-637.

Costa J. P. Islam M. T., Santos P. S., Ferreira P. B., Oliveira G. L., Alencar M. V., Paz M. F., Ferreira E. L., Feitosa C. M., Cito A. M., Sousa D. P., Melo-Cavalcante A. A. 2016. Evaluation of Antioxidant Activity of Phytol Using Non- and Pre-Clinical Models. **Curr Pharm Biotechnol.** 17(14), 1278-1284.

Fallaha S., Rostaeia M., Lorigooinib Z and Surkia A. A. 2018. Chemical compositions of essential oil and antioxidant activity of dragonhead (Dracocephalum moldavica) in sole crop and dragonheadsoybean (Glycine max) intercropping system under organic manure and chemical fertilizers. **Industrial Crops and Products**. 115, 158-165.

Fanga X., Lia Y., Niea J., Wangb C., Huanga K., Zhanga Y., Zhanga Y., Shea H., Liud X., Ruana R., Yuana X. and Yia Z. 2018. Effects of nitrogen fertilizer and planting density on the leaf photosynthetic characteristics, agronomic traits and grain yield in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.). **Field Crops Research**. 219, 160-168.

Gressier B., Lebaegue S., Luyckx M., Dine T., Cazin M., Cazin J. 1994 Pro-oxidant properties of methotrexate: evaluation and prevention by an anti-oxidant drug. **Journal Pharmazie**. 49, 679–681

Halliwell B, Aerchabach R., 1995 Free radicals and antioxidants in food and in vivo. **Lologer Journal and Aruoma OI, Food Chem**. Toxicol, 33(7), 601-617

Kotliarov Y, Kotliarova S, Charong N, Li A, Walling J, Aquilanti E, Ahn S, Steed M.E., Su Q, Center A, Zenklusen J.C., Fine H.A., 2009 Correlation analysis between single-nucleotide polymorphism and expression arrays in gliomas identifies potentially relevant target genes. **Cancer Res**. 4, 1596-603

Krishnan R. K., James F. and Mohan A. 2016. Isolation and characterization of n-hexadecanoic acid from Canthium parviflorum leaves. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**. 8(8), 614-617

Lee W., Woo ER and Lee DG. 2016. Phytol has antibacterial property by inducing oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. **Free Radical Research.** 50(12), 1309-1318.

Moghaddam M., Miran N. K. S., Pirbalouti A. G., Mehdizadeh L. and Ghaderi Y., 2015. Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.). **Fruits during stages of maturity**. 70, 163–169

Racha K. K., James F. and Mohan A. 2018. Isolation and characterization of n-hexadecanoic acid from *Canthium parviflorum* leaves. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**. 8(8), 614-617.

Raman V., Saradhi M. P., LA S., Rao N., Krishna V. N. A. and Radhakrishnan T. 2012. Antibacterial, antioxidant activity and GC-MS analysis of Eupatorium odoratum. **Asian journal of pharmaceutical and clinical research**. 5(2), 99-106

Rerey I. B., Jabri-Karoui I., Hamrouni-Sellami I., Bourgou S., Limam F. and Marzouk B. 2012. Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. **Industrial Crops and Products**. 36(1), 238–245

Runyono D., Ngassapa O, Vagionas K, Aligiannis N., Graikou K. and Chinou I. 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four Ocimum species growing in Tanzania. **Food Chemistry**. 119., 311-316.

Sanchez-Moreno C. 2002. Methods used to evaluate the free radicalscavenging activity in foods and biological systems. **Food SciTechnol Int**. 8, 121–137.

Sanseera D. , Niwatananun W., Liawruangrath B., Liawruangrath S.,Aphiwat Baramee A. and Pyne G. A. 2011. Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oil from Leaves of *Cleidion javanicum* Bl. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**. 15(2), 186-194..

Santos C.C., Salvadori M. S., Mota V. G., Costa L. M., Almeida A. A., Oliveira G. A., Costa J. P., Sousa D. P., Freitas R. M', Almeida R. N. 2013. Antinociceptive and Antioxidant Activities of Phytol In Vivo and In Vitro Models. **Neurosci journal.** 2013, 9.

Soosairaj S. and Dons T. 2016. Bio-active compounds analysis and characterization in Ethanolic plant extracts of *Justicia tranquenariensis* L. (Acanthaceae) – usinng GC-MS. **ChemTech Research**. 9, 260-265.

Souri E., Amin G., Farsam H. and Barazandeh T.M. 2008. Screening of Antioxidant Activity and Phenolic Content of 24 Medicinal Plant Extracts. DARU **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 16(2), 83-87.

Sowbhagya, H.B., Srinivas, P., Purnima, K.T. and Krishnamurthy, N. 2011. Enzyme-assisted extraction of volatiles from cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. **Journal Food Chemistry** 127, 1856-1861

Valacchi G, Pagnin E, Corbacho A.M., Olano E, Davis PA, Packer L, Cross CE. 2004 In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. **Free Radic Biol Med**. 36, 673–681

Voest, E.E., Van. A.S.A., Vijgh W.J., Asbeck B.S., Bast, A., 1994 Comparison of different iron chelators as protective agents against acute doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Journal Mol Cell Cardiol**. 26, 1179–1185.

Wei W., Yan Y., Cao J., Christie P., Zhang F and Fan M. 2016. Effects of combined application of organic amendments and fertilizers on crop yield and soil organic matter: An integrated analysis of long-term experiments. **Agriculture, Ecosystems & Environment.** 225(1), 86-92.

Yakouba A. R. B., Abdehedic O., Elfallehd M. J. W., Nasric M. and Ferchichie A. 2018. Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.). **Industrial Crops and Products**. 118, 206-213.

Yang D., Michel L., Chaumont J-P., Millet-Clerc J. 2000. Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of onychomycosis. **Mycopathologia.** 148, 79-82.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA)

Mueller Hinton Agar (MHA)	30	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1000	กรัม

ชั่งส่วนประกอบของอาหารตามปริมาณที่ต้องการเตรียม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ต้มจนกระทั่งส่วนประกอบเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สูตรอาหารเหลว Brain-heart infusion broth (BHIB)

GHI	37	กรัม
Glucose (dextrose)	20	กรัม
L. Cysteinehydrochloride	1.1	กรัม
Distilled water	1000	กรัม

ชั่งส่วนประกอบของอาหารตามปริมาณที่ต้องการเตรียม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดสอบ

การเตรียมสารละลาย DPPH

ชั่ง DPPH ปริมาณ 39.4 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 99% 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เทใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด หุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ เพื่อป้องกันการทำปฏิกิริยากับแสง นำไปเก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการใช้ในการทดสอบ ดูดสารละลาย DPPH จาก stock ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นเจือจางด้วยเอทานอล 99% ปริมาตร 10 ไมโครลิตร

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด

สารเคมี

- Folin-Ciocalteu reagent
- สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต
- สารละลายกรดแกลลิก

การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตด้วยสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลท เติม Folin-Ciocalteu 100 ไมโครลิตร เติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เก็บไว้ในที่มืดที่อุณห๓มิห้อง 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplete reader

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

สารเคมี

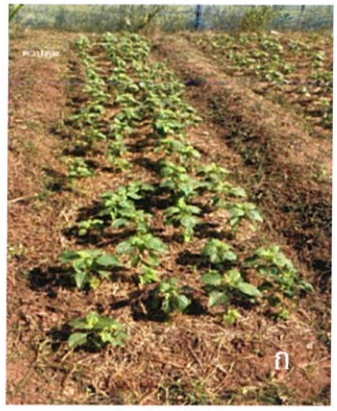
- สารละลายโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นร้อยละ 5
- สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

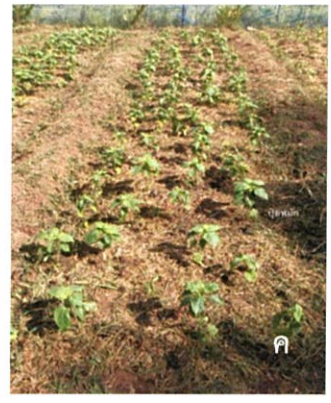
การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เตรียมสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายใน Dimethyl Sulfoxide (DMSO) เจือจางความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลอง 60 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร เติม Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 300 ไมโครลิตรและเติม 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ปริมาตร 240 ไมโครลิตร ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน ปิเปตสารละลายที่ได้ลงใน 96 ไมโครเวลเพลท บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ที่เครื่อง Microplate reader โดยใช้กรดแกลลิคเป็นกราฟมาตรฐาน

ภาคผนวก ค

ภาพสถานที่เก็บตัวอย่างพืช





รูปภาคผนวก ค.1 สถานที่เพาะกล้ายี่หร่าที่ อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว จำนวน 450 ต้น โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มการทดลอง (ก) ไม่ใส่ปุ๋ย (ข) ใส่ปุ๋ยคอก (ค) ใส่ปุ๋ยหมัก

ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่างมีลักษณะภูมิประเทศที่อุดมสมบูรณ์ โดยสถานที่เพาะกล้ายี่หร่าที่อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว จำนวน 450 ต้น โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มการทดลอง ได้แก่ กลุ่มการทดลองไม่ใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยคอก และใส่ปุ๋ยหมัก ในการเพาะกล้ายี่หร่าดูแลโดยการใส่ปุ๋ย 1 ครั้งต่อ 2 สัปดาห์ รดน้ำเป็นประจำ และเก็บใบยี่หร่าเมื่ออายุใบครบ 3 เดือน

ภาคผนวก ง

1. ข้อมูลผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า

ตารางภาคผนวก ง.1 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองไม่ใส่ปุ๋ย

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% Inhibition
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
2.5	0.13	0.14	0.14	0.32	83.04
1.25	0.27	0.28	0.28	0.28	65.59
0.63	0.38	0.39	0.39	0.39	52.00
0.31	0.45	0.46	0.47	0.49	43.77

ตารางภาคผนวก ง.2 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองใส่ปุ๋ยคอก

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% Inhibition
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
2.5	0.11	0.11	0.11	0.11	86.03
1.25	0.21	0.21	0.19	0.20	73.94
0.63	0.32	0.33	0.34	0.33	58.98
0.31	0.45	0.43	0.39	0.43	44.39

ตารางภาคผนวก ง.3 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบยี่หร่ากลุ่มการทดลองใส่ปุ๋ยหมัก

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% Inhibition
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
2.5	0.13	0.13	0.14	0.13	83.34
1.25	0.31	0.30	0.32	0.31	63.09
0.63	0.50	0.50	0.52	0.51	36.53
0.31	0.62	0.63	0.63	0.63	20.82

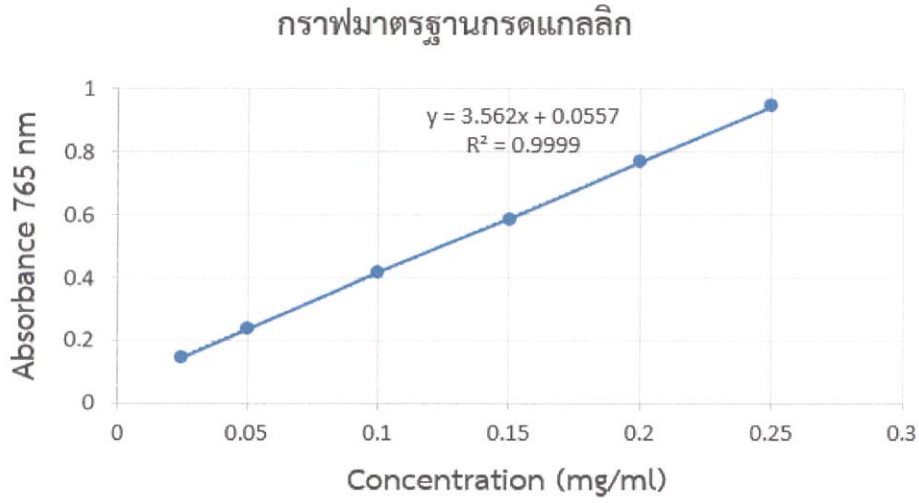
2. ข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า

ตารางภาคผนวก ง.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากยี่หร่าที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

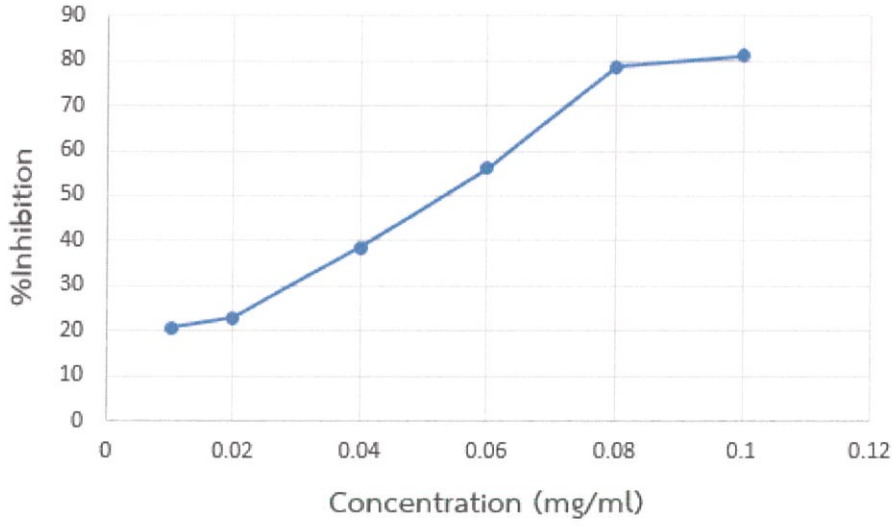
ตัวอย่าง	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร				ไมโครกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	0.53	0.55	0.52	0.53	53.37
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	0.38	0.36	0.38	0.37	35.74
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยปุ๋ยหมัก	0.73	0.74	0.73	0.73	75.72

ตารางภาคผนวก ง.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

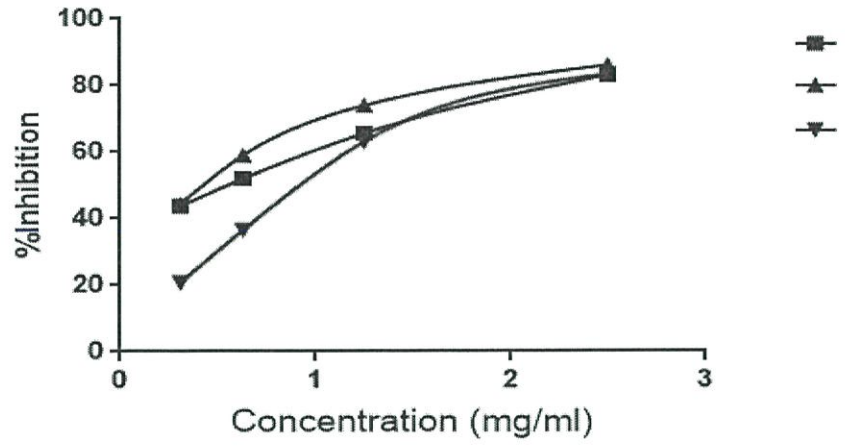
ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
0.025	0.14
0.050	0.24
0.100	0.42
0.150	0.59
0.200	0.77
0.250	0.95



รูปภาคผนวก ง.1 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร



รูปภาคผนวก ง.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของกรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้นต่างๆ



■ สารสกัดหยาบยี่หร่าไม่ใส่ปุ๋ย

▲สารสกัดหยาบยี่หร่าใส่ปุ๋ยคอก

▼สารสกัดหยาบยี่หร่าใส่ปุ๋ยหมัก

รูปภาคผนวก ง.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากการทดลองทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง

3. ข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า

ตารางภาคผนวก ง.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดยี่หร่าที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่าง	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร				ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	0.64	0.68	0.62	0.65	74.70
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	0.56	0.57	0.55	0.56	43.90
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	0.64	0.66	0.64	0.65	114.44

ภาคผนวก จ

การคำนวณและตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวก จ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Sourse	Dependent Variable	Type lll Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.5 mg/ml	12.092[a]	2	6.049	1.847	0.237
	1.25 mg/ml	191.992[b]	2	95.996	264.557	0
	0.63 mg/ml	764.181[c]	2	382.090	2055.231	0
	0.31 mg/ml	1053.066[d]	2	526.533	1451.927	0
Intercept	2.5 mg/ml	64299.43	1	64299.435	19634.614	0
	1.25 mg/ml	40902.36	1	40902.366	112723.549	0
	0.63 mg/ml	21728.73	1	21728.725	31989.256	0
	0.31 mg/ml	11600.73	1	11600.726	1.847	0.237
Extract	2.5 mg/ml	12.097	2	6.049	264.557	0
	1.25 mg/ml	191.992	2	95.996	2055.231	0
	0.63 mg/ml	765.181	2	382.090	1451.927	0
	0.31 mg/ml	1055.066	2	526.533		
Error	2.5 mg/ml	19.649	6	3.275		
	1.25 mg/ml	2.177	6	363		
	0.63 mg/ml	1.115	6	186		
	0.31 mg/ml	2.176	6	363		
Total	2.5 mg/ml	64331.181	9			
	1.25 mg/ml	41096.535	9			
	0.63 mg/ml	22494.021	9			
	0.31 mg/ml	12655.968	9			

ตารางภาคผนวก จ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Sourse	Dependent Variable	Type lll Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected	2.5 mg/ml	31.746	8			
Total	1.25 mg/ml	194.169	8			
	0.63 mg/ml	765.296	8			
	0.31 mg/ml	1055.242	8			

ตารางภาคผนวก จ.3 การจัดกลุ่มของข้อมูลร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบในแต่ละความเข้มข้นโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	3	0.11	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	3		0.13
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	3		0.14
Sig.	3	1.00	1.00

ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	3	0.21		
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	3		0.28	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	3			0.30
Sig.	3	1.00	1.00	1.00

ความเข้มข้น 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	3	0.33		
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	3		0.39	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	3			0.51
Sig.	3	1.00	1.00	1.00

ความเข้มข้น 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	3	0.47		
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	3		0.46	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	3			0.64
Sig.	3	**1.00**	**1.00**	**1.00**

ตารางภาคผนวก จ.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

ANOVA					
สารสกัด	Sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	0.191	2	0.095	122758.857	0.000
Within Group	0.000	6	0.000		
Tatal	**0.191**	**8**			

ตารางภาคผนวก จ.5 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณสารปะกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	3	0.37		
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	3		0.53	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	3			0.73
Sig.		**1.00**	**1.00**	**1.00**

ตารางภาคผนวก จ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

ANOVA					
สารสกัด	Sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	219.224	9	24.36	10.16	0.00
Within Group	33.556	14	2.40		
Tatal	**252.780**	**23**			

ตารางภาคผนวก จ.7 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี Duncan ที่ระดับ ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	3	0.38		
สกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	3		0.53	
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	3			0.73
Sig.		**1.00**	**1.00**	**1.00**

ตารางภาคผนวก จ.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ATCC 6633 โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Sourse	Dependent Variable	Type lll Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Corrected	100 mg/ml	13.825[a]	2	6.91	8.119	0.062
Model	200 mg/ml	47.035[b]	2	23.518	3.848	0.149
	300 mg/ml	55.032[c]	2	27.516	7.670	0.066
Intercept	100 mg/ml	525.845	1	525.45	617.612	0.000
	200 mg/ml	834.732	1	834.732	136.598	0.001
	300 mg/ml	949.060	1	949.060	264.547	0.001
Extract	100 mg/ml	13.825	2	6.913	8.119	0.062
	200 mg/ml	47.035	2	23.518	3.848	0.149
	300 mg/ml	55.032	2	27.516	7.670	0.066
Error	100 mg/ml	2.554	3	0.851		
	200 mg/ml	18.333	3	6.111		
	300 mg/ml	10.762	3	3.587		
Total	100 mg/ml	542.224	6			
	200 mg/ml	900.100	6			
	300 mg/ml	1014.855	6			
Corrected	100 mg/ml	16.368	5			
Total	200 mg/ml	65.368	5			
	300 mg/ml	65.794	5			

ตารางภาคผนวก จ.9 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2		11.46
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2	8.71	8.71
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	7.92	
Sig.		**0.46**	**0.06**

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	15.49
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2	11.18
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2	8.72
Sig.		**0.07**

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2		16.38
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2	12.38	12.38
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	8.97	
Sig.		**0.17**	**0.13**

ตารางภาคผนวก จ.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Sourse	Dependent Variable	Type lll Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Corrected Model	100 mg/ml	7.433[a]	2	3.716	1.182	0.418
	200 mg/ml	63.221[b]	2	31.611	5.686	0.095
	300 mg/ml	0.981[c]	2	0.490	0.422	0.690
Intercept	100 mg/ml	1122.581	1	1122.581	357.004	0.000
	200 mg/ml	1627.895	1	1627.895	292.839	0.000
	300 mg/ml	1342.510	1	1342.510	1154.997	0.000
Extract	100 mg/ml	7.433	2	3.716	1.182	0.418
	200 mg/ml	63.221	2	31.611	5.686	0.095
	300 mg/ml	0.981	2	0.490	0.422	0.690
Error	100 mg/ml	9.433	3	3.144		
	200 mg/ml	16.677	3	5.559		
	300 mg/ml	3.487	3	1.162		
Total	100 mg/ml	1139.447	6			
	200 mg/ml	1707.793	6			
	300 mg/ml	1346.978	6			
Corrected Total	100 mg/ml	16.866	5			
	200 mg/ml	79.898	5			
	300 mg/ml	4.468	5			

ตารางภาคผนวก จ.11 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ของสารสกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2	13.79
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2	14.99
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	12.27
Sig.		0.22

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2	15.19	15.19
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2		20.93
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	13.30	
Sig.		0.48	0.93

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2	14.67
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2	14.68
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	15.53
Sig.		0.48

ตารางภาคผนวก จ.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* TISTR 118 โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Sourse	Dependent Variable	Type lll Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Corrected Model	100 mg/ml	0.163[a]	2	0.082	24.500	0.014
	200 mg/ml	0.010[b]	2	0.005	0.143	0.872
	300 mg/ml	0.023[c]	2	0.012	0.778	0.534
Intercept	100 mg/ml	416.667	1	416.667	125000.000	0.000
	200 mg/ml	428.415	1	428.415	12240.429	0.000
	300 mg/ml	431.802	1	431.802	287.86.778	0.000
Extract	100 mg/ml	0.163	2	0.082	24.500	0.014
	200 mg/ml	0.010	2	0.005	0.143	0.872
	300 mg/ml	0.023	2	0.012	0.778	0.534
Error	100 mg/ml	0.010	3	0.003		
	200 mg/ml	0.105	3	0.035		
	300 mg/ml	0.045	3	0.015		
Total	100 mg/ml	416.840	6			
	200 mg/ml	428.530	6			
	300 mg/ml	431.870	6			
Corrected Total	100 mg/ml	0.173	5			
	200 mg/ml	0.115	5			
	300 mg/ml	0.068	5			

ตารางภาคผนวก จ.13 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสาร สกัดหยาบยี่หร่าแต่ละกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2	12.27
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2	13.79
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	14.99
Sig.		0.22

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2	15.19	15.19
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2		20.93
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	13.30	
Sig.		0.48	0.09

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยหมัก	2	14.67
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ย	2	14.68
สารสกัดหยาบยี่หร่าที่ปลูกโดยใส่ปุ๋ยคอก	2	15.53
Sig.		0.48

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 3 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2561

ข้าพเจา นางสาวกิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว รหัสประจำตัว 57050671

นางสาวทิพย์นารี ต่วนชะเอม รหัสประจำตัว 57050690

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา

ขอรับรองวาโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย ผลของพารามิเตอร์ดินต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากยี่หร่า

ชื่อภาษาอังกฤษ Effect of soil parameters on crude extract from cumin

ปการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น และได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อน เรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษศึกษาฉบับสมบูรณแล้วโปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.55%

ลงชื่อ กิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว

(กิติมาภรณ์ ก้านบัวแก้ว)

นักศึกษา

ลงชื่อ ทิพย์นารี ต่วนชะเอม

(ทิพย์นารี ต่วนชะเอม)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้วขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....

(ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ)

อาจารย์ที่ปรึกษา